

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Determinación de sodio, potasio, hierro, cinc y calcio en tres leguminosas: garbanzo, soya y maní, por espectrofotometría de absorción atómica de llama.

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Ciencias Químicas con
mención en Química Analítica

PEDRO DANIEL DÁVILA FIALLOS

Quito, 2015

CERTIFICACIÓN

CERTIFICACIÓN DE LA TERMINACIÓN DE LA DISERTACIÓN POR PARTE DEL DIRECTOR DE LA DISERTACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, del candidato Pedro Daniel Dávila Fiallos ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentado para la calificación correspondiente.

Fecha:

Dr. Ramiro Gallegos

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por ser un apoyo incondicional, por creer y confiar en mí a cada momento y por estar en los buenos y malos momentos, en las victorias y en los fracasos y por brindarme su amor incondicionalmente. A mi madre, Mónica, por ser un apoyo constante y darme esos empujones necesarios, A mi hermana, Paola, por creer en mí desde el principio y por apoyarme en cada decisión tomada.

A mis profesores, que fueron una guía en este camino, en especial al Dr. Ramiro Gallegos, que me brindó esta oportunidad y confió en mí, me ha impartido sus conocimientos y me ha dado consejos no solo de la carrera, sino del actuar en la vida que me han servido mucho. A Carlotita, que fue una profesora genial y supo darme el jalón de orejas cuando me lo merecía. A Eli, mi primera profesora de Química en la Universidad que me habló sobre la carrera y me motivó a seguir en ella.

A mis compañeros y amigos, Sofía, Daniel, Matilde y Christian con los que compartí muchas horas en las aulas, risas y tristezas, horas de estudio y muchas más de diversión, con los que pronto seremos colegas. A Charlie, un amigo incondicional al que aprecio mucho, que ha estado en buenas y malas, y que con su ayuda también hizo posible este trabajo. A Mabe, que me ha acompañado todo este camino hasta el día de hoy.

Finalmente Pontificia Universidad Católica del Ecuador, en especial a la Escuela de Ciencias Químicas, por brindarme los espacios y los recursos para la realización de este trabajo

RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivo principal la determinación de sodio, potasio, calcio, hierro y cinc en tres leguminosas: garbanzo, soya y dos variedades de maní (caramelo o peruano y negro o virginia) por espectrofotometría de absorción atómica de llama, los métodos utilizados fueron los de la Asociación Oficial de Químicos Agrícolas (AOAC por sus siglas en inglés).

El trabajo inició con un muestreo aleatorio simple en los principales mercados populares y supermercados de la ciudad de Quito. Las muestras fueron preparadas, digestadas por vía seca y analizadas por espectrofotometría de absorción atómica.

Posteriormente se realizó el respectivo tratamiento estadístico, se calcularon los estadísticos: media aritmética, desviación estándar. Las pruebas aplicadas fueron: t de Student, para determinar diferencias significativas entre los datos obtenidos en este estudio y valores tabulados en la tabla de Composición de Alimentos de Ecuatorianos de 1965.

Se utilizó el Análisis de Varianza (ANOVA) para establecer si existían diferencias significativas entre variedades de leguminosas, lugares de muestreo y días de muestreo. Posterior al ANOVA se aplicó la prueba DHS de Tukey para establecer las diferencias significativas entre pares de medias.

De los resultados obtenidos se determinó que la soya es la leguminosa que tiene un mayor contenido de minerales en mg por cada 100 g de alimento, como: sodio de 24,07 a 28mg/100 g, potasio 1964,24 a 2315,06mg/100 g, calcio 145,10 a 165,18mg/100 g y de cinc de 3,91 a 4,17mg/100 g, a excepción del hierro, ya que el maní tiene un contenido de 4,48 a 4,60mg/100 g de alimento.

Por último se demostró que la digestión vía húmeda asistida por microondas es equivalente a la digestión por vía seca para la determinación de sodio en alimentos, se demostró la lineal, repetibilidad y reproducibilidad por lo que puede ser implementado para el análisis en el laboratorio.

Palabras clave: espectrofotometría de absorción atómica; minerales; leguminosas; digestión vía húmeda asistida por microondas.

ABSTRACT

The aim of this work was the determination of sodium, potassium, calcium, iron and zinc in three legumes: chickpeas, soybeans and two varieties of peanut (Peruvian and Virginia) by flame atomic absorption spectrophotometry.

The work began with a simple random sampling in the most popular markets and supermarkets of Quito. Samples were prepared, calcined and analyzed by atomic absorption spectrophotometry.

Statistical analysis was performed; the statistics calculated were: arithmetic mean, standard deviation. The tests used were: Student t test, to determine significant differences between the data obtained in this study and the values tabulated in 1965's Ecuadorian Food Composition Table; Analysis of Variance (ANOVA), to establish whether there were significant differences between varieties of legumes, sampling locations and sampling days. DHS Tukey was applied after ANOVA test to establish significant differences between pairs of means.

It was determined that soy is a legume with higher mineral content in mg/100 g of food: sodium: 24.07 - 28mg/100 g, potassium: 1964.24 - 2315.06mg/100 g, calcium: 145.10 - 165.18mg/100g and zinc: 3.91 – 4.7 mg/100g, except for iron, as peanuts having a content of 4.48 - 4.60 mg / 100 g of food.

T test determined that there are significant differences between the data tabulated in Ecuadorian Food Composition table and the results obtained in this study.

Finally, it was shown that wet microwave assisted digestion is equivalent to dry digestion process for sodium determination in foods and that sodium analysis method is linear, repeatable and reproducible so that it can be implemented for laboratory analysis.

Keywords: atomic absorption spectrophotometry; minerals; legumes; assisted microwave wet digestion.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN	v
ABSTRACT	vii
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
ÍNDICE DE ANEXOS	xvii
INTRODUCCIÓN.....	xviii
 CAPÍTULO I	1
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. ALIMENTOS	1
1.2. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE ALIMENTOS	1
1.3. NUTRICIÓN	3
1.3.1. NUTRIENTES	5
1.4. LEGUMINOSAS	8
1.4.1. VARIEDADES DE LEGUMINOSAS ESTUDIADAS	11
1.5. ANÁLISIS DE MINERALES.....	14
1.6. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	15
1.6.1. INSTRUMENTACIÓN	17
1.6.2. INTERFERENCIAS	20
1.7. PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN.....	22
1.7.1. PRUEBA T	23
1.7.2. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) Y PRUEBA F DE FISHER	24
1.7.3. PRUEBA HDS DE TUKEY	25
1.8. VALIDACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE SODIO EN ALIMENTOS.....	26
1.8.1. OBJETIVO	26
1.8.2. ALCANCE	27
1.8.3. PARÁMETROS A VALIDAR.....	27

1.8.4. RESUMEN DEL PLAN DE VALIDACIÓN	37
CAPÍTULO II	39
2. MATERIALES Y MÉTODOS	39
2.1. MUESTRAS.....	39
2.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	40
2.3. MÉTODOS.....	42
2.3.1.DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD (AOAC 925.10)	42
2.3.2.CALCINACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE MINERALES (AOAC 985.35).....	44
2.3.3.DETERMINACIÓN DE MINERALES	46
2.3.3.1. DETERMINACIÓN DE SODIO (AOAC 985.35)	52
2.3.3.2. DETERMINACIÓN DE POTASIO (AOAC 985.35)	54
2.3.3.3. DETERMINACIÓN DE CALCIO (AOAC 985.35)	57
2.3.3.4. DETERMINACIÓN DE HIERRO (AOAC 985.35)	59
2.3.3.5. DETERMINACIÓN DE CINC (AOAC 985.35).....	61
2.3.4. DIGESTIÓN VÍA HÚMEDA ASISTIDA POR MICROONDAS.....	63
CAPÍTULO III	66
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	66
3.1. RESULTADOS	67
3.1.1.DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.....	67
3.1.2.DETERMINACIÓN DE SODIO.....	72
3.1.3.DETERMINACIÓN DE POTASIO	77
3.1.4.DETERMINACIÓN DE CALCIO	81
3.1.5.DETERMINACIÓN DE HIERRO	855
3.1.6.DETERMINACIÓN DE CINC	90
3.2.PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN.....	96
3.2.1.PRUEBA T	96
3.2.2.ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)	98
3.2.2.1. ANALISIS DE VARIANZA ENTRE VARIEDADES	98
3.2.2.2. ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE MUESTRAS	100
3.2.3.PRUEBA HDS DE TUKEY	112

3.2.3.1. PRUEBA DE TUKEY ENTRE VARIEDADES	112
3.2.3.2. PRUEBA DE TUKEY PARA MUESTRAS	113
3.3.VALIDACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE SODIO EN ALIMENTOS	121
3.3.1.COMPARACIÓN ENTRE MÉTODOS	135
 CAPÍTULO IV	139
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	139
4.1.CONCLUSIONES.....	139
4.2.RECOMENDACIONES	141
 CAPÍTULO V	143
5. BIBLIOGRAFÍA	143
ANEXOS.....	147

ÍNICE DE TABLAS

CAPÍTULO I	1
Tabla 1.1. Tabla de fórmulas utilizadas en un análisis de varianza	24
Tabla 1.2. Criterio de aceptación de recuperación de AOAC [24].....	34
Tabla 1.3. Parámetros y pruebas para la validación	38
 CAPÍTULO II.....	 39
Tabla 2.1. Codificación de lugar de muestreo y número análisis de por lugar	40
Tabla 2.2. Condiciones experimentales utilizadas en el espectrómetro de absorción atómica	50
Tabla 2.3. Diluciones para la determinación de sodio en las diferentes matrices:	54
Tabla 2.4. Diluciones para la determinación de potasio en las diferentes matrices:	54
Tabla 2.5. Diluciones para la determinación de calcio en las diferentes matrices:	59
Tabla 2.6. Diluciones para la determinación de hierro en las diferentes matrices:	61
Tabla 2.7. Diluciones para la determinación de cinc en las diferentes matrices:	63
 CAPÍTULO III	 66
Tabla 3.1. Comparación de parámetros entre arroz, maní, soya y garbanzo.....	67
Tabla 3.2. Normas de requisitos de leguminosas	68
Tabla 3.3. Resultados de la determinación del porcentaje de humedad.....	68
Tabla 3.4. Resultados promedio de la determinación del porcentaje de humedad.....	69
Tabla 3.5. Desviación estándar y coeficiente de variación del porcentaje de humedad .	71
Tabla 3.6. Resultados de la concentración de sodio en las leguminosas.....	72
Tabla 3.7. Resultados promedio de la determinación de sodio en mg/ 100 g de muestra	74
Tabla 3.8. Desviación estándar y coeficiente de variación del contenido de sodio en las leguminosas estudiadas	76
Tabla 3.9. Resultados de la concentración de potasio en las leguminosas.....	77
Tabla 3.10. Resultados promedio de la determinación de potasio en mg/ 100 g de muestra	79
Tabla 3.11. Desviación estándar y coeficiente de variación del contenido de potasio en las leguminosas estudiadas	80
Tabla 3.12. Resultados de la concentración de calcio en las leguminosas.....	81

Tabla 3.13. Resultados promedio de la determinación de calcio en mg/ 100 g de muestra	83
Tabla 3.14. Desviación estándar y coeficiente de variación del contenido de calcio en las leguminosas estudiadas	84
Tabla 3.15. Resultados de la concentración de hierro en las leguminosas	85
Tabla 3.16. Resultados promedio de la determinación de hierro en mg/ 100 g de muestra	88
Tabla 3.17. Desviación estándar y coeficiente de variación del contenido de hierro en las leguminosas estudiadas	89
Tabla 3.18. Resultados de la concentración de cinc en las leguminosas.....	90
Tabla 3.19. Resultados promedio de la determinación de cinc en mg/ 100 g de muestra	92
Tabla 3.20. Desviación estándar y coeficiente de variación del contenido de calcio en las leguminosas estudiadas	93
Tabla 3.21. Resumen de los promedios y desviaciones estándar relativa de los parámetros estudiados en cada leguminosa	94
Tabla 3.22. Resumen de los rangos de los parámetros estudiados en cada leguminosa	95
Tabla 3.23. Límites calculados de los parámetros estudiados en cada leguminosa	95
Tabla 3.24. Parámetros reportados en la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos de 1965 para cada leguminosa estudiada	96
Tabla 3.25. t calculado y criterio de aceptación	97
Tabla 3.26. Análisis de varianza (ANOVA) entre las leguminosas estudiadas	98
Tabla 3.27. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Humedad	100
Tabla 3.28. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Sodio.....	101
Tabla 3.29. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Potasio.....	102
Tabla 3.30. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Calcio.....	103
Tabla 3.31. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Hierro.....	104
Tabla 3.32. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Cinc	105
Tabla 3.33. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Humedad	106
Tabla 3.34. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Sodio.....	107
Tabla 3.35. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Potasio	108
Tabla 3.36. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Calcio.....	109
Tabla 3.37. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Hierro.....	110
Tabla 3.38. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Cinc	111

Tabla 3.39. Prueba de Tukey entre variedades.....	112
Tabla 3.40. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro; Humedad	113
Tabla 3.41. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro: Sodio	114
Tabla 3.42. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro: Potasio	116
Tabla 3.43. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro: Calcio	117
Tabla 3.44. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro: Hierro	118
Tabla 3.45. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro: Cinc	119
Tabla 3.46. Prueba de Tukey entre Semanas.....	120
Tabla 3.47. Resultados de concentración y absorbancia de las curvas de calibración ..	121
Tabla 3.48. Resultados de linealidad	126
Tabla 3.49. Resultados de la sensibilidad.....	127
Tabla 3.50. Resultados de sodio obtenidos de la muestra diluida 100 veces	128
Tabla 3.51. Análisis de material de referencia	129
Tabla 3.52 Resultados del análisis de sodio en harina de arroz	130
Tabla 3.53. Resultado de las fortificaciones.....	131
Tabla 3.54. Medias del porcentaje de recuperación de fortificaciones	133
Tabla 3.55. Resultados del análisis de contenido de sodio en el material de referencia por el segundo analista	134
Tabla 3.56. Resultados del análisis de sodio en harina de arroz después de digestión vía seca	137
Tabla 3.57. Resultados del análisis de sodio en harina de arroz después de digestión vía húmeda	137

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I	1
Figura 1.1 Izq: Pirámide Alimenticia (USA Ariculture Department 2005) ; Der:Pirámide Alimenticia (USA Ariculture Department 1992) [9].....	5
Figura 1.2 Estructura del ácido fítico en forma ionizada. [15].....	10
Figura 1.3 Ácido fítico formando complejos con minerales y aminoácidos. [15].	10
Figura 1.4 Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i>)	11
Figura 1.5 Maní virginia (<i>Hypogaea hypogaea hypogaea</i>).....	12
Figura 1.6 Maní peruano (<i>Hypogaea hypogaea hirsuta</i>)	12
Figura 1.7 Soya (Glycine max)	13
Figura 1.8 Mechero de flujo laminar	18
Figura 1.9 Espectrofotómetro de llama: Diseño de haz sencillo	20
 CAPÍTULO II.....	 39
Figura 2.1 Zonas de muestreo señaladas en el mapa de la Ciudad de Quito [25].	39
 CAPÍTULO III	 66
Figura 3.1 Curva de calibración promedio primer día	123
Figura 3.2 Curva de calibración promedio segundo día.....	124
Figura 3.3 Curva de calibración promedio tercer día	124
Figura 3.4 Curva de calibración promedio cuarto día	125
Figura 3.5 Curva de calibración promedio quinto día.....	125

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: TABLA DE COMPOSICIÓN DE LEGUMINOSAS ECUATORIANAS DE 1965 [3]	147
ANEXO 2: TABLA DE DISTRIBUCIÓN T DE STUDENT	150
ANEXO 3: TABLA DE DISTRIBUCIÓN F DE FISHER	152
ANEXO 4: TABLA DE TUKEY	154
ANEXO 5: CÁLCULOS DE LA VALIDACIÓN	155
ANEXO 6: MÉTODOS AOAC UTILIZADOS.....	160
ANEXO 7: CERTIFICADOS DE LOS ESTÁNDARES	165

INTRODUCCIÓN

Las leguminosas son una importante fuente de minerales en especial de calcio, la cantidad de calcio presente en las mismas de hasta 227 mg por cada 100 g de semilla, supera ampliamente a los niveles encontrados en cereales y además son comparables a las cantidades encontradas en los productos lácteos, debido a esto, 50 g de leguminosas al día pueden prestar una contribución útil a los requerimientos de este mineral [1].

El hierro se encuentra en cantidades que oscilan alrededor de 6 mg por cada 100 g. de semilla, niveles muy superiores a cualquier otro alimento, exceptuando al hígado o la levadura desecada, sin embargo, pese a este alto contenido los coeficientes de absorción del hierro de estos alimentos oscila entre el 10 al 20%. Entre los restantes minerales presentes en las leguminosas destacan sus contenidos en magnesio (60 a 183 mg/100 g de semilla), fósforo (301 a 586 mg) y azufre (196 a 237 mg) [1].

Las leguminosas son consumidas tanto por gente que se rige por una dieta omnívora y por la gente que ha optado por una dieta vegetariana. En el caso de estos últimos, el consumo de leguminosas es de suma importancia debido a que éstas son un alimento que contienen una gran cantidad de proteínas, minerales, grasas y vitaminas que podrían reemplazar la ingesta de carne o leche animal [2].

El consumo de leguminosas debe ser variado, ya que no todas poseen los valores necesarios de los nutrientes que el cuerpo humano necesita a diario, así por ejemplo, la

soya y el maní poseen una gran cantidad de proteínas mientras que el garbanzo posee gran cantidad de vitaminas y minerales [2].

Es importante el conocimiento del contenido mineral de los productos propuestos, debido a que la soya y el garbanzo son la base de los productos de consumo vegetariano, ya sea en carnes o leche para el primero; o como grano para el segundo [2]. El maní, por su parte es la base de muchos productos de consumo alimenticio, mayoritariamente en la costa.

Al haberse realizado ya un estudio proximal sobre leguminosas en la Escuela de Ciencias Químicas [3], este estudio será complementario para así poder actualizar la tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos que se encuentra vigente desde el año de 1965 hasta la actualidad [4].

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. ALIMENTOS

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO (Food and Agriculture Organization por sus siglas en Inglés), se entiende por "alimento" toda sustancia elaborada, semielaborada o bruta, que se destina al consumo humano, incluyendo las bebidas, el chicle y cualquier otra sustancia que se utilice en la fabricación, preparación o tratamiento de los alimentos, pero se excluyen los cosméticos, el tabaco y las sustancias utilizadas en medicamentos [5].

1.2. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE ALIMENTOS

El análisis de los alimentos implica la caracterización de los mismos desde el punto de vista físico-químico, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir, determinar que sustancias (Nutrientes) están presentes en un alimento y en qué cantidades se encuentran [6].

Dicho análisis es importante debido a que los alimentos tienen dos grandes propiedades para el ser humano:

Propiedades nutricionales:

Son aquellas que se relacionan con la capacidad que tenga el alimento de contribuir con la dieta alimenticia con las estructuras químicas o nutrientes necesarios para que el organismo desempeñe las funciones fisiológicas y bioquímicas propias de sus procesos vitales [7].

Propiedades funcionales:

Son aquellas que, al margen del valor nutritivo, presentan los ingredientes o las especies químicas y determinan el comportamiento del sistema alimentario [7].

Abarcan tres ámbitos importantes:

- **Propiedades organolépticas o sensoriales:**

Hacen referencia a la capacidad de hacer apetecible o atractivo un alimento, en virtud de las cualidades que son percibidas por los órganos de los sentidos [7].

- **Propiedades tecnológicas:**

Permiten contribuir, o facilitar, los procesos vinculados a la tecnología de fabricación industrial [7].

- **Propiedades saludables:**

Contribuyen para que el consumo del alimento no resulte perjudicial desde un punto de vista higiénico-sanitario [7].

El análisis bromatológico de alimentos es extenso, incluye: humedad, cenizas, extracto etéreo, fibra total y extracto libre de nitrógeno; sin embargo con este análisis no se identifican compuestos específicos, sino sólo grupos funcionales que presentan características similares.

Debido a esto es necesario realizar el análisis de compuestos específicos en los alimentos, en concreto el análisis de nutrientes presentes en el alimento.

1.3. NUTRICIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) la nutrición se define como la ingesta de alimentos en relación con las necesidades dietéticas del organismo. Una mala nutrición puede reducir la inmunidad, aumentar la vulnerabilidad a las enfermedades, alterar el desarrollo físico y mental, y reducir la productividad [8].

Los procesos de la nutrición cumplen tres objetivos básicos en el organismo:

- Aporte de materiales de construcción, de síntesis y renovación de las propias estructuras orgánicas, a esta se la conoce como función plástica.
- Aporte de reguladores, que son las sustancias necesarias para que el organismo regule procesos químicos.
- Aporte de energía, gracias a ésta el organismo es capaz de realizar sus funciones.

Se debe diferenciar entre alimentación y nutrición, ya que la primera hace referencia a la ingesta de los productos complejos a partir de los cuales el organismo por medio de distintos procesos obtendrá los nutrientes necesarios; la segunda se refiere netamente al proceso involuntario, condicionado por el organismo y las circunstancias particulares de la persona, con los nutrientes recibidos mediante la alimentación.

Debido a que se presenta como una dificultad para una persona, el conocimiento innato de los alimentos que debe ingerir, para obtener de la dieta diaria los nutrientes necesarios para el organismo, se han creado tablas de la composición de los alimentos y también la “Pirámide Alimenticia”.

Las tablas de composición de alimentos, varían entre las regiones dónde estos son cultivados, por eso cada país posee una tabla de composición alimenticia que sirve como guía para su población. Lamentablemente la tabla de composición de alimentos del Ecuador, no ha sido actualizada desde hace casi ya cincuenta años, y tomando en cuenta que la composición de los alimentos varía por varios factores y uno de ellos es tiempo, por lo que es recomendable realizar la actualización de la misma.

Por su parte, la “Pirámide Alimenticia”, es una guía propuesta por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos de Norteamérica en el año de 1992, para indicar cuáles son los alimentos y en qué cantidad éstos deben ser ingeridos para tener una dieta diaria saludable y equilibrada.

En la Figura 1.1 se puede apreciar las versiones de la “Pirámide Alimenticia” del año 2005 (izquierda) y del año 1992 (derecha) respectivamente.

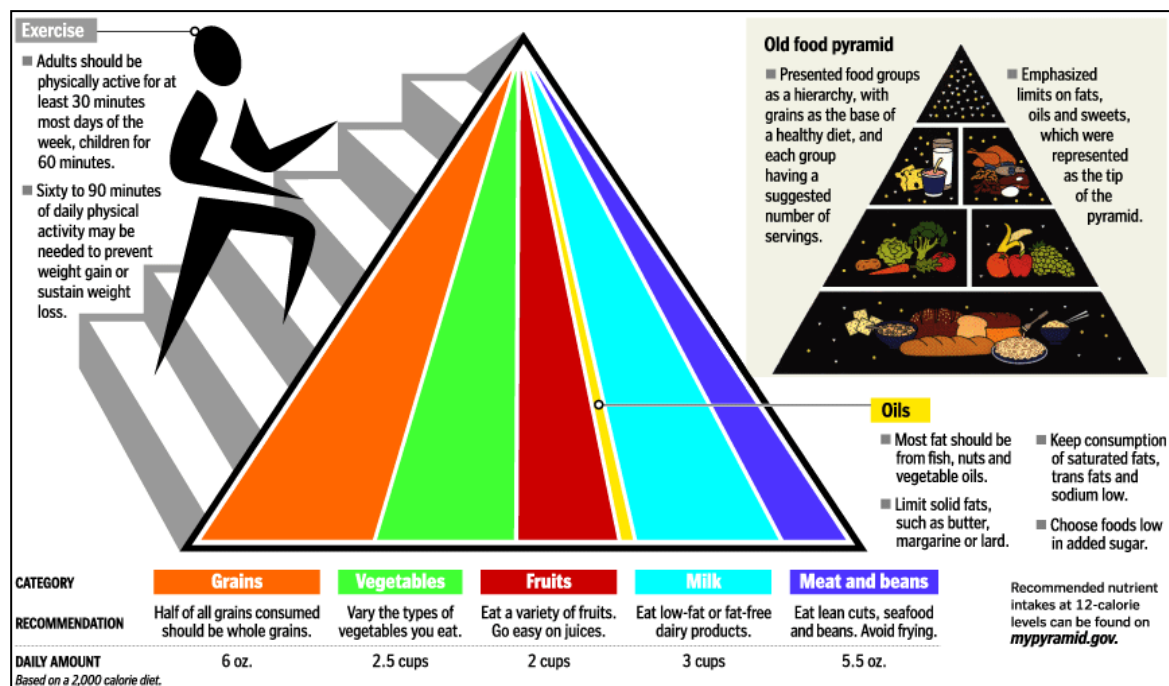


Figura 1.1 Izq: Pirámide Alimenticia (USA Ariculture Department 2005) ;

Der: Pirámide Alimenticia (USA Ariculture Department 1992) [9].

1.3.1. NUTRIENTES

Son sustancias químicas que se encuentran en los alimentos, algunos nutrientes como los aminoácidos, minerales, ácidos grasos y vitaminas, son considerados esenciales y deben formar parte en la ingesta diaria de alimentos. Los nutrientes se clasifican en dos grandes grupos, los macronutrientes y los micronutrientes.

- **MACRONUTRIENTES**

El ser humano requiere diariamente de grandes cantidades de macronutrientes, y están constituidos por macronutrientes orgánicos, que son proteínas, lípidos y glúcidos. Estos brindan energía al cuerpo [10].

- **MICRONUTRIENTES**

El grupo de los micronutrientes está constituido por vitaminas y minerales, que han de ingerirse en pequeñas cantidades, pero que son esenciales en el mantenimiento de la actividad bioquímica, ya que participan en un gran número de reacciones catalizadas enzimáticamente, las cuales no se producirían en su ausencia y por tanto no se podrían metabolizar los macronutrientes [10].

- **MINERALES**

Los minerales cumplen diferentes funciones en el cuerpo humano, tales como reguladoras de la composición de los líquidos extra e intracelulares, además plástica al formar parte de la estructura de muchos tejidos como los huesos y dientes [11].

Los minerales se clasifican en: macrominerales debido a que el ser humano necesita más de 100 mg al día y minerales traza o microminerales debido a que el ser humano necesita menos de 100 mg al día [12].

A) SODIO

Principal ion positivo del líquido extracelular, el sodio tiene un importante papel en el balance hidroelectrolítico y ácido-base, así como en los mecanismos de transporte y de excitabilidad muscular y nerviosa. La dosis recomendada de consumo diario de sodio es de 1500 mg [12,13].

B) POTASIO

El potasio ejerce una acción complementaria a la del sodio en el funcionamiento de las células. Es esencial para el correcto crecimiento del organismo, forma parte de los huesos, participa en el equilibrio osmótico: concentración de sustancias dentro y fuera de las células, interviene en la producción de proteínas a partir de sus componentes principales que son los aminoácidos, interviene en el metabolismo de los hidratos de carbono. El consumo diario promedio para un adulto es de 4700 mg [12,13].

C) HIERRO

El hierro es un mineral indispensable para la vida: forma la hemoglobina de los glóbulos rojos, que se encarga de transportar el oxígeno que respiramos a través de la sangre hasta todas las células del organismo, previene la anemia, transporta las proteínas, controla los radicales libres y es necesario para la metabolización de las el grupo de vitaminas B (Tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantoténico, piridoxina, biotina, ácido fólico y cobalamina). Si la dieta no aporta suficiente cantidad de hierro, las reservas van siendo gradualmente movilizadas y finalmente puede aparecer la llamada anemia ferropénica. El consumo diario promedio para un adulto es de 9 a 27 mg [12,13].

D) CINC

Es un micromineral que participa en más de 200 reacciones químicas a nivel celular, está implicado en prácticamente todos los sistemas de mantenimiento y regulación corporal, además, el cinc forma parte de un gran número de enzimas. Es fundamental para el crecimiento, sirve para mantener el sentido del gusto y por tanto el apetito y para facilitar la

cicatrización de las heridas. El consumo diario promedio para un adulto es de 4,2 a 14 mg [12,13].

E) CALCIO

El calcio es el mineral que se encuentra en mayor cantidad en el organismo, principalmente en huesos y dientes. Tiene por tanto, una importante función en el mantenimiento del tejido óseo y es fundamental para el crecimiento. Una pequeña cantidad se encuentra en la sangre líquidos y tejidos blandos donde interviene en diversas funciones como mantenimiento de la actividad neuromuscular y regulación de la permeabilidad de las membranas y de la coagulación sanguínea. El consumo diario promedio para un adulto es de 1 000 mg [12,13].

1.4. LEGUMINOSAS

Las leguminosas (*Leguminosae*) o fabáceas (*Fabaceae*) son un orden de plantas cuyo fruto es una vaina. A medida que la planta madura, las vainas se secan y nacen las semillas, las cuales al madurar, almacenan alimento para que germine otra planta. Debido a esto, las leguminosas secas tienen más nutrientes que cuando aún están frescas y verdes.

Según la FAO, las leguminosas se clasifican en dos tipos:

- Las Legumbres: tienen bajo contenido de grasa como lo son las lentejas, el garbanzo, el fréjol, etc.
- Semillas con alto contenido de grasas o las Oleaginosas como son el maní y la soya.

La cantidad de minerales que tenga la leguminosa depende de la variedad y el tipo de la misma, además de la calidad del suelo en la que haya sido cultivada, como en toda especie vegetal.

La absorción de algunos minerales presentes en las leguminosas se ve limitada por la presencia del ácido fítico Figura 1.2, el cual se forma de la esterificación del alcohol inositol con un máximo de 6 grupos fosfato, llegando a contener hasta 28.2% de fósforo en la molécula, es considerado el principal antinutriente de cereales y legumbres. Debido a que los humanos no poseen las bacterias para desintegrar el ácido fítico y bajo las condiciones de pH del tracto gastro-intestinal, este compuesto se encuentra ionizado (fitato), presentando cargas negativas que atraen, acomplejando moléculas minerales (Ca, Mg, Fe Cu y Zn) y la porción libre de los aminoácidos básicos (Lys, Arg, His) en las cadenas proteicas Figura 1.3 [14].

En ocasiones el ácido fítico tiene funciones beneficiosas, ya que puede acomplejar metales pesados como el cadmio (Cd^{2+}) y plomo (Pb^{2+}) y de esta forma estos metales son excretados por las heces y no producen daño. También puede presentar propiedades anticancerígenas evitando la proliferación celular al unirse al cinc (Zn^{2+}) o al magnesio (Mg^{2+}), reduciendo la biodisponibilidad de estos minerales necesarios para la síntesis de ADN [14,15].

Las leguminosas además aportan otros beneficios: son excelentes fuentes de fibra y vitaminas del complejo B, como la tiamina y riboflavina.

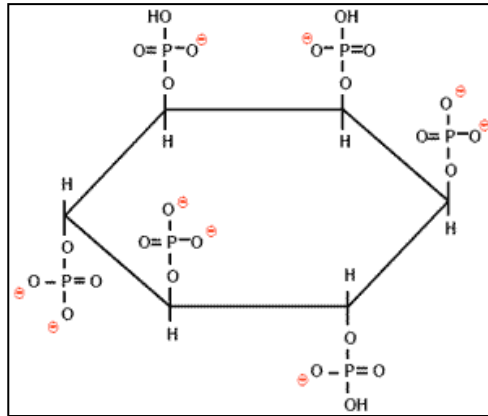


Figura 1.2 Estructura del ácido fítico en forma ionizada. [15].

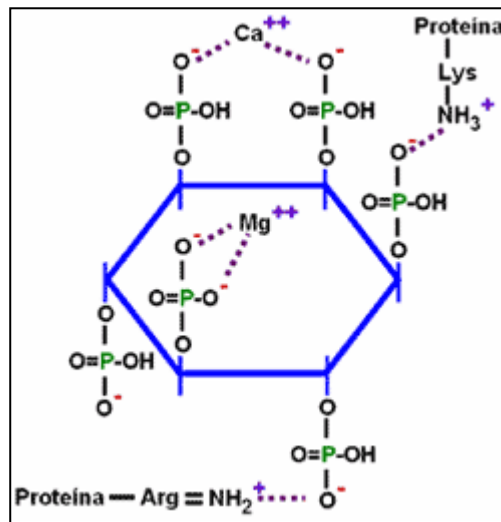


Figura 1.3 Ácido fítico formando complejos con minerales y aminoácidos. [15].

1.4.1. VARIEDADES DE LEGUMINOSAS ESTUDIADAS

- **GARBANZO**

El garbanzo (*Cicer arietinum*) es una planta herbácea que se cultiva para la alimentación humana, y después del fréjol, es la segunda en importancia debido a que se cultivan en promedio cerca de diez millones de hectáreas alrededor del mundo [16].

Nutricionalmente el garbanzo es una fuente significativa de fibra, minerales, vitamina B, B9 y B6, carbohidratos, calorías, proteínas y ácidos grasos poliinsaturados. En la figura Figura 1.4 se puede observar la especie.



Figura 1.4 Garbanzo (*Cicer arietinum*) [17].

- **MANÍ**

El maní (*Arachis hypogaea* L) es una leguminosa originaria de América del Sur, tiene una gran importancia tanto económica, debido principalmente a que del mismo se extrae aceite para cocinar (segundo lugar de producción de aceite atrás de la palma) y existe una gran variedad de productos a partir del mismo, y nutricional, ya que en el maní se encuentra una

gran cantidad de grasas poliinsaturadas, vitaminas y proteínas, además de contener antioxidantes y disminuir el colesterol de alta densidad.

Las especies de maní estudiadas son: la primera de género: *hypogaea*, subespecie: *hypogaea* y variedad: *hypogaea*, especie de tipo comercial, maní “Virginia” conocido comúnmente como maní negro Figura 1.5; la segunda especie es género: *hypogaea*, subespecie: *hypogaea* y variedad: *hirsuta*, maní “Peruvian runner” conocido como maní peruano o boliviano Figura 1.6.



Figura 1.5 Maní virginia (*Hypogaea hypogaea hypogaea*) [18].



Figura 1.6 Maní peruano (*Hypogaea hypogaea hirsuta*) [18].

- **SOYA**

La soya (*Glycine max*) Figura 1.7, es una oleaginosa originaria del suroeste asiático, concretamente de la zona de China y es una de las plantas más antiguas cultivadas por el hombre. Mundialmente la soya es producida en gran cantidad para el consumo del ganado, y en una menor medida para la elaboración de aditivos para alimentos de consumo humano [19].

Una de las ventajas de la soya se debe a que es un alimento con alto valor proteico, y dicha proteína es similar a la animal, es decir, son proteínas semejantes a las completas o de primera calidad. También cuenta con aminoácidos, carbohidratos y ácidos grasos, por lo que se extrae el aceite.

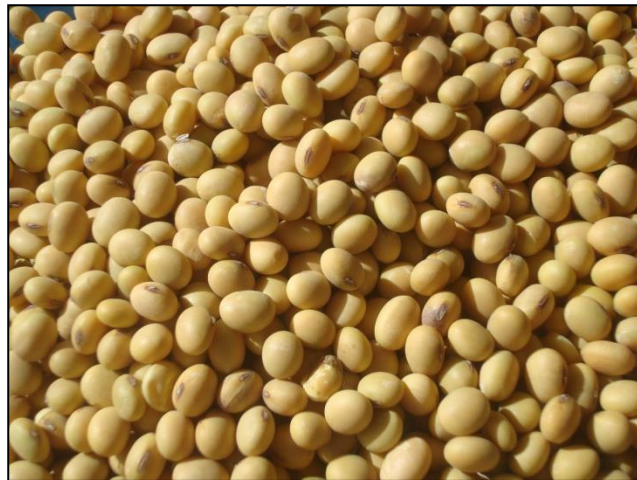


Figura 1.7 Soya (*Glycine max*) [20].

1.5. ANÁLISIS DE MINERALES

El análisis de minerales de los alimentos, una matriz compleja debido a la presencia de carbohidratos, proteínas y otros nutrientes de distinta naturaleza, empieza con la mineralización de los mismos. La mineralización consiste en eliminar la materia orgánica de la muestra en su totalidad, obteniendo los minerales de la muestra en forma de compuestos analizables por métodos gravimétricos, volumétricos o instrumentales. Los métodos existentes para la digestión de una muestra son:

- **DIGESTIÓN VÍA SECA:**

Consiste en la calcinación de la muestra, con la ayuda de un horno mufla, convirtiendo la materia orgánica en dióxido de carbono y a los minerales en óxidos, carbonatos o fosfatos dependiendo de la temperatura que se utilice en el método; dependiendo del tipo de análisis que se quiera efectuar, se realizará un tratamiento a las cenizas procedentes de este método.

- **DIGESTIÓN VÍA HÚMEDA:**

La digestión vía húmeda consiste en el tratamiento de la muestra con una mezcla oxidante. Esta técnica tiene dos variantes, la clásica que consiste en el calentamiento de la muestra con oxidantes energéticos y la del sistema cerrado bajo presión, el cual optimiza el método, realizando una digestión en menor tiempo y con un gasto menor de reactivos.

1.6. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La espectrofotometría de absorción atómica es una técnica ampliamente utilizada desde hace más de medio siglo para la determinación de elementos minerales. En la técnica de atomización por llama, la muestra en solución es nebulizada mediante un flujo de gas oxidante y se forman átomos gaseosos que son excitados por un haz de radiación electromagnética de una longitud de onda específica proveniente de una fuente de radiación cuyo cátodo corresponde al mismo elemento a analizar [21].

• LEY DE LAMBERT-BEER

La espectrofotometría de absorción atómica, tiene como fundamento la Ley de Lambert-Beer, que debido a que la trayectoria de la luz o radiación, es constante, y el coeficiente de absorción es característico para cada elemento se establece una relación proporcionalmente directa entre la concentración de una sustancia y la absorción de la luz de la misma.

• TRANSMITANCIA

La transmitancia se define como la relación que existe entre un haz de luz de salida (P) y un incidente (P_o) después de atravesar un medio que tiene un espesor b en cm y una concentración c de una especie absorbente [21].

La transmitancia se expresa como:

$$T = P/P_o \quad (1.1)$$

Donde:

T= Transmitancia

P= Intensidad de la luz de los estándares o la muestra

P_o= Intensidad de la luz del blanco

A menudo la transmitancia se expresa como porcentaje de transmitancia

$$\% T = P/P_o \times 100\% \quad (1.2)$$

• **ABSORBANCIA**

La absorbancia se define como el logaritmo negativo de la transmitancia, además, al contrario de la transmitancia, la absorbancia aumenta al aumentar la concentración de la muestra [21].

$$A = -\log T = -\log P/P_o \quad (1.3)$$

Como la absorbancia es proporcional a la concentración de la sustancia que absorbe la radiación incidente, se obtiene que:

$$A = a \times b \times c \quad (1.4)$$

Donde:

A= Absorbancia

a= constante de proporcionalidad de cada sustancia denominada absorptividad

b= espesor del medio que atraviesa la radiación

c= concentración de la sustancia que absorbe la luz

Cuando la concentración se expresa en molaridad y el espesor en cm, la absorptividad se denomina absorptividad molar y se representa por el símbolo ϵ que tiene las unidades $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y la ecuación se define como:

$$A = \epsilon \times b \times c \quad (1.5)$$

1.6.1. INSTRUMENTACIÓN

Un equipo de absorción atómica posee componentes básicos, los cuales son: la fuente de radiación, un atomizador, el monocromador, detector, un amplificador de señal y sistema de presentación. Los componentes antes mencionados, funcionan mediante cinco sistemas, los cuales son:

- **SISTEMA DE REGULACIÓN DE COMBUSTIBLE Y OXIDANTE**

Los flujos de combustible y oxidante son variables importantes que requieren un control preciso, debido que de ellos dependerá la optimización de la absorción. Generalmente, los caudales utilizados se encuentran en proporciones estequiometrias; pero para la determinación de metales que forman óxidos estables, lo mejor es el uso de llamas que contengan un exceso de combustible en la mezcla [21].

- **SISTEMA NEBULIZADOR-QUEMADOR**

En la espectroscopia de absorción atómica, por lo general, se utilizan atomizadores de llama. El sistema está compuesto por un nebulizador, el cuál junto con el gas oxidante forma el aerosol; este último se va a mezclar con el gas combustible para ser posteriormente quemados en el mechero. Los mecheros de flujo laminar proporcionan una llama relativamente estable y larga, propiedades que tienden a aumentar la sensibilidad y la reproducibilidad [21].

Este sistema en particular proporciona una reproducibilidad mayor a cualquier método para la introducción de muestras líquidas desarrollado hasta la fecha, sin embargo, la sensibilidad del sistema es deficiente a comparación de otros métodos, debido a que en la cámara de nebulización, una gran cantidad de muestra es eliminada por el drenaje [21].

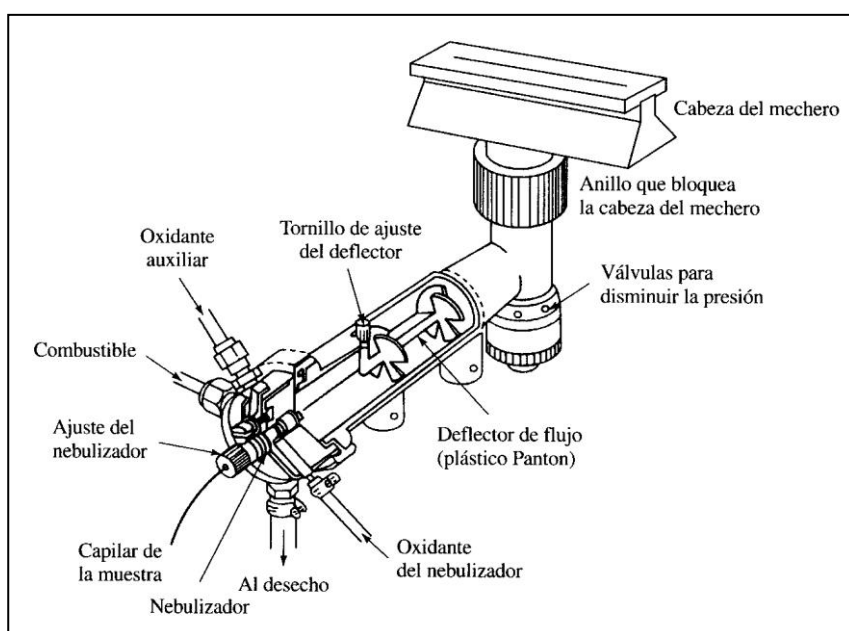


Figura 1.8 Mechero de flujo laminar [21].

- **SISTEMA DE FUENTES DE LUZ PARA ABSORCIÓN ATÓMICA**

La fuente radiante más común para las mediciones de absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco. La lámpara consiste en un cilindro relleno con un gas inerte dentro del cual se encuentra un cátodo, el cuál es del mismo metal a analizar, y un ánodo. Al aplicar un cierto potencial a través de los electrodos esta fuente emite el espectro atómico del metal del cual está construido el cátodo [22]

- **SISTEMA ÓPTICO**

El sistema óptico se encarga de seleccionar la radiación de longitud de onda de interés, se puede lograr un mejor aislamiento de la longitud de onda por medio de un prisma o monocromador de rejilla. El monocromador aísla la longitud de onda deseada y reduce el flujo total de luz que llega al detector. Para mejorar la precisión y el límite de detección, se debe permitir la entrada de más luz, lo que se logra con el ensanchamiento de las rendijas [23].

- **SISTEMA DETECCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y DE LECTURA**

Este sistema se encarga de convertir la señal, emitida por el monocromador y recibida por el detector, sea transformada a una señal eléctrica, que a su vez, será transformada en un valor que se encuentre acorde a las necesidades. El fototubo multiplicador es el detector utilizado más común, este recibe una señal de potencias radiantes pequeñas y las amplifica. Son detectores muy sensibles para el espectro visible y tienen tiempos de respuesta extremadamente rápidos [21].

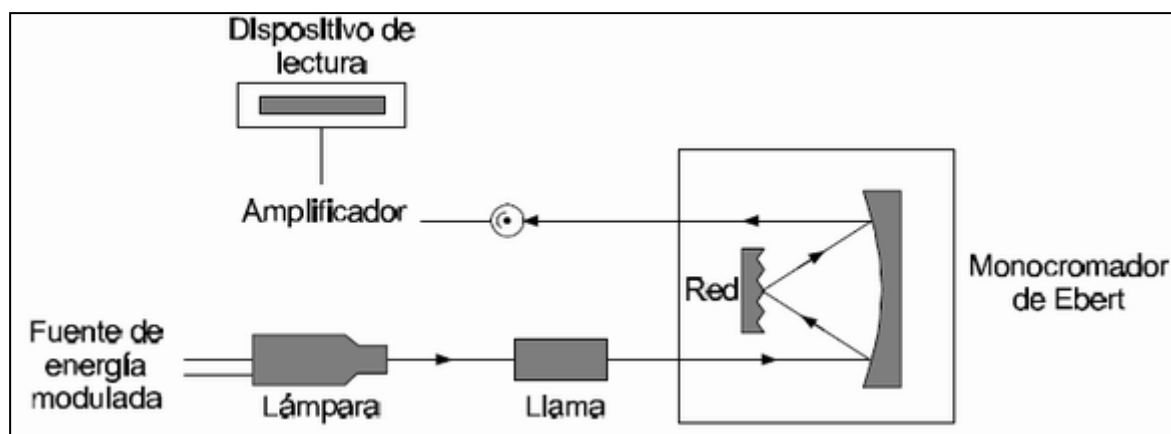


Figura 1.9 Espectrofotómetro de llama: Diseño de haz sencillo [21].

1.6.2. INTERFERENCIAS

Se define como interferencias a los elementos o factores que impiden la medida directa del analito deseado.

A) INTERFERENCIAS FÍSICAS

Este tipo de interferencias están relacionadas con la efectividad con que la solución es transportada a la llama y son causadas por diferencias en las propiedades físicas de las soluciones: viscosidad, tensión superficial o presión de vapor. Una forma de compensar este tipo de interferencia es preparar las soluciones estándar con los mismos componentes de la matriz de la solución problema [22].

B) INTERFERENCIAS QUÍMICAS

Una interferencia química es cualquier alteración en el número total de átomos libres formados por unidad de volumen debido a la formación de compuestos químicos termoestables. Las causas más comunes de éstas son [22]:

C) FORMACIÓN DE COMPUESTOS POCO VOLÁTILES

El tipo más común de interferencia es probablemente el producido por aniones que forman compuestos de baja volatilidad con el analito, reduciendo así su velocidad de atomización; lo que origina resultados menores a lo esperado [22].

En muchas ocasiones pueden eliminarse o atenuarse las interferencias debidas a la formación de compuestos poco volátiles aumentando la temperatura. También pueden emplearse agentes liberadores que son cationes que reaccionan preferentemente con el interferente e impiden su interacción con el analito [22].

D) REACCIÓN ESPONTÁNEA DE LOS ÁTOMOS LIBRES CON OTROS ÁTOMOS O RADICALES PRESENTES EN EL MEDIO AMBIENTE

Esta interferencia es causada por la formación de óxidos e hidróxidos y ocasionalmente carburos o nitruros, debido a la reacción de los átomos libres con los productos de la combustión de la llama. La magnitud de la interferencia va a depender del tipo de estequiometría de la llama [22].

E) INTERFERENCIAS DE IONIZACIÓN

Un átomo neutro en su estado fundamental puede ser ionizado a temperaturas elevadas. Estos iones exhiben propiedades espectroscópicas diferentes a un átomo neutro y no pueden ser determinados por espectroscopia de absorción atómica. Esta interferencia depende tanto de la temperatura de la llama como del potencial de ionización del elemento en estudio [21].

Estas interferencias se pueden eliminar agregando a todas las soluciones estándar agentes supresores de la ionización.

F) INTERFERENCIAS ESPECTRALES

En este tipo de interferencias, la radiación del elemento a determinar es directamente influenciada, existiendo interferencias espectrales de línea e interferencias espectrales de banda [22].

Se pueden eliminar utilizando un método de corrección de doble línea, que consiste en la medición de una línea de emisión no absorbida por el analito, cuyo valor se resta al valor de la medición obtenida a la longitud de onda de resonancia del analito; o se pueden modificar parámetros analíticos como la relación combustible/oxidante o cambiando la línea de emisión del analito [22].

1.7. PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN

1.7.1. PRUEBA T

La prueba t se utiliza para comparar medias de dos grupos diferentes, en el caso particular de este trabajo se compararon las medias obtenidas con los valores reportados en la Tabla de Alimentos Ecuatorianos de 1965 [4]. Esta prueba nos permite establecer si existen diferencias significativas entre las medias de dos grupos.

La prueba se realiza de la siguiente manera:

Se plantea una hipótesis nula (H_0) que es la que indica que no existen diferencias significativas entre el valor teórico y el valor obtenido; si esta H_0 es rechazada, se acepta la hipótesis alterna (H_1) que indica diferencias significativas entre los valores.

Para obtener el t calculado, se utiliza la siguiente fórmula:

$$t = \frac{|\bar{x} - \mu|}{s} \sqrt{n} \quad (1.6)$$

Donde:

t= Valor a comparar con t tabulado

\bar{x} = Media de la muestra

μ = Valor teórico

s= Desviación estándar de la muestra

n= Tamaño de muestras

El valor t obtenido se compara a un 95% de confianza o un nivel de significación $\alpha = 0,05$ con un valor t tabulado, al comparar los valores, si t calculado es menor que t tabulado se acepta H_0 ; si t tabulado es menor a t calculado se rechaza H_0 y se acepta H_1 .

1.7.2. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) Y PRUEBA F DE FISHER

La prueba de análisis de varianza o ANOVA, según sus siglas en inglés, aunque se trata de una prueba que contrarresta varianzas, es utilizada para determinar diferencias significativas entre un conjunto de medias. Se basa en la comparación de la variabilidad media que hay entre los grupos con la que hay dentro de los grupos y se utilizan las fórmulas representadas en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Tabla de fórmulas utilizadas en un análisis de varianza

Origen de Varianza	Grados de Libertad	Suma de diferencia cuadráticas	Diferencia cuadráticas de medias
Entre grupos	$v_B = h - 1$ (1.7)	$SDC_B = n \sum (\bar{x}_1 - \bar{\bar{x}})^2$ (1.10)	$DCM_B = \sigma_B^2 = \frac{SDC_B}{v_B}$ (1.13)
Dentro de grupos	$v_W = h(n - 1)$ (1.8)	$SDC_W = \sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$ (1.11)	$DCM_W = \sigma_W^2 = \frac{SDC_W}{v_W}$ (1.14)
Total	$v_{Total} = v_B + v_W$ (1.9)	$SDC_{Total} = SDC_B + SDC_W$ (1.12)	$\sigma_{Total}^2 = \frac{SDC_{Total}}{(h \times n) - 1}$ (1.15)

Donde:

h = número de variantes

n = número de repeticiones

v = grados de libertad

x_1 = media del grupo

x = media total

x_{ij} = valor individual

Se determina si existe diferencia significativa al calcular el valor F de Fisher, que es una relación entre varianzas:

$$F = \frac{\sigma_M}{\sigma_m} \quad (1.16)$$

Donde:

σ_M = Varianza mayor.

σ_m = Varianza menor

El valor calculado se compara con un valor F tabulado (ANEXO 3) con un 95 % de confianza, si el valor de F calculado es mayor al valor de F tabulado, la hipótesis nula (H_0) se rechaza indicando que existen diferencias significativas entre las medias.

1.7.3. PRUEBA HDS DE TUKEY

Para determinar que o cuales medias son significativamente diferentes de las otras se debe realizar la prueba de Tukey. Esta prueba se realiza cuando se obtienen diferencias significativas en el análisis de varianza (ANOVA).

Para aplicar la prueba de HDS de TUKEY se debe aplicar la siguiente fórmula:

$$HDS = q_{t;N-t (0,05)} \sqrt{\frac{DCM_w}{n}} \quad (1.17)$$

Donde:

N= número total de observaciones

t= número de niveles del factor

$q_{t;N-t (0,05)}$ = número en la tabla Tukey a 95% de confianza (ANEXO 4)

DCMw= Estimación de la varianza del error

n= tamaño muestral de cada nivel de factor

Para la aceptación de la H_0 = No existen diferencias significativas entre las medias, $HDS > a$ la diferencia de las medias.

1.8. VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE SODIO EN ALIMENTOS

1.8.1.OBJETIVO

El objetivo de la validación es demostrar la hipótesis planteada, la cual es que la digestión vía húmeda de la muestra es equivalente a la calcinación vía seca de la misma como se propone en el método AOAC 985.35.

La modificación que se realizó al método es que la destrucción de la materia orgánica se hizo por vía húmeda, se utilizó una mezcla oxidante de ácido nítrico y peróxido de hidrógeno, y fue asistida por microondas (sistema cerrado de alta presión).

El método tiene como fundamento la destrucción de la materia orgánica por vía seca hasta lograr la digestión del alimento, posteriormente el residuo es disuelto con ácido nítrico diluido para posterior determinación del o los analitos por Espectrofotometría de Absorción Atómica con llama.

1.8.2.ALCANCE

La validación se aplica para el análisis de sodio por espectrofotometría de absorción atómica después de la digestión asistida por microondas en alimentos, en una concentración de 5,0 mg a 100,0 mg por cada 100g de alimento con una dilución máxima de 100.

Se escogió como matriz de validación el arroz, debido a que es uno de los alimentos que menor cantidad de sodio presenta por cada 100 gramos de alimento, aproximadamente 7 mg en muestra cruda.

1.8.3.PARÁMETROS A VALIDAR

- **LINEALIDAD**

Propiedad de un método analítico de dar una respuesta o resultado instrumental, dentro de un intervalo, proporcional a la cantidad de analito que existe en la muestra. La linealidad se determinó a partir de 5 curvas de calibración por cinco días, las cuales estuvieron

compuestas por 7 puntos incluido el blanco. Las curvas de calibración son un gráfico formado por la Función-Respuesta, es decir, la respuesta que el equipo entrega acorde a una concentración. De dicho gráfico se calcula el coeficiente de correlación (r) y el coeficiente de determinación (R^2).

Criterio de aceptación

Para que una función sea lineal, y a la vez el rango de trabajo, se aceptará un $r \geq 0,990$ y un $R^2 \geq 0,995$ [24].

Los cálculos se realizaron de la siguiente manera:

Coeficiente de correlación: Es un número que indica el grado de relación recíproca de dos variables (Concentración – Respuesta). Los coeficientes de correlación varían entre 0 (sin correlación) y -1 o +1 (correlación perfecta).

$$r = \frac{\sum(x_i - \bar{x}) \times \sum(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \times \sum(y_i - \bar{y})^2}} \quad (1.18)$$

Coeficiente de determinación: Coeficiente que indica la proporción de variación de la variable Y que es explicada por la variable X. Si la proporción es igual a 0, significa que la

variable predictiva (X) no tiene capacidad predictiva de la variable a predecir (Y). Cuanto mayor sea la proporción, mejor será la predicción. Si llegara a ser igual a 1 la variable predictiva explicaría toda la variación de Y, y las predicciones no tendrían error.

$$r^2 = \frac{(Y-\bar{Y})^2 - (Y-Y')^2}{(Y-\bar{Y})^2} \quad (1.19)$$

Pendiente: Indica la sensibilidad del método, cuando la pendiente es más empinada, indica una mayor sensibilidad que cuando la pendiente es menos empinada.

$$b = \frac{\sum(x_i - \bar{x}) \times \sum(y_i - \bar{y})}{\sum(x_i - \bar{x})^2} \quad (1.20)$$

Ordenada al origen: Se determina para evaluar la proporcionalidad de la función analítica, es decir, que la recta pase por el origen y que cualquier desviación pueda adjudicarse únicamente a un error aleatorio.

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (1.21)$$

Error estándar de la estimación de la concentración del analito:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y})^2}{n-2}} \quad (1.22)$$

Error estándar de la pendiente:

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad (1.23)$$

Error estándar de la ordenada en el origen:

$$S_a = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i)^2}{n(\sum_{i=1}^n x_i - \bar{x})^2}} = S_b \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n}} \quad (1.24)$$

Donde:

$S_{y/x}$: error de las lecturas de Y con relación a los patrones.

\hat{y}_i : Lectura de la señal estimada para cada concentración a partir de la ecuación:

$$\hat{y}_{est} = bx + a \quad (1.25)$$

• SENSIBILIDAD

Un método es sensible cuando una pequeña variación de concentración determina una gran variación de respuesta. La sensibilidad se calcula con la pendiente de la recta de calibración.

En palabras de análisis, permite observar la capacidad de respuesta instrumental, frente a una cantidad de analito.

- **LÍMITES**

Sirven para establecer el rango de trabajo a utilizar, mismo que está comprendido entre los límites de cuantificación y el patrón de mayor concentración.

- **LÍMITE DE DETECCIÓN**

El límite de detección obtiene a partir de la realización de 10 ensayos de medición de una matriz de muestra en un nivel de concentración cercano al límite de detección (LD) esperado, determinar la desviación estándar de las concentraciones obtenidas (S_o), calcular el valor de LD como [24]:

$$LD = 3,29 \times S_o \quad (1.26)$$

- **LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN**

El límite de cuantificación se obtiene a partir de la realización de 10 ensayos de medición de una matriz de muestra en un nivel de concentración cercano al límite de cuantificación (LQ) esperado, determinar la desviación estándar de las concentraciones obtenidas (S_o), calcular el valor de LQ como [24]:

$$LQ = 10 \times S_o \quad (1.27)$$

• VERACIDAD

El término exactitud, está aplicado a un conjunto de resultados de un ensayo, y supone una combinación de componentes aleatorios y un componente común de error sistemático o sesgo.

➤ SESGO

La diferencia entre una medición y el valor verdadero. En la práctica el valor convencional de cantidad puede sustituir el valor verdadero. El sesgo es el error sistemático total en contraposición al error aleatorio.

Para determinar el sesgo se utilizó material de referencia (Leche en polvo infantil con concentración conocida de sodio), se realizaron 10 lecturas del mismo. Se determinó la diferencia en valor absoluto entre el valor conocido y la media del valor obtenido. Una diferencia sistemática importante, es decir menor veracidad del método, en relación al valor de referencia aceptado se refleja en un mayor valor del sesgo, cuanto más pequeño es el sesgo, mayor veracidad indica el método.

$$s = X - X_a \quad (1.28)$$

Donde:

s= sesgo

X = lectura obtenida o valor promedio de las lecturas obtenidas.

X_a = valor asignado, valor certificado del material de referencia o valor esperado.

Criterio de aceptación

Para demostrar que no existen diferencias significativas entre el valor de referencia y el valor obtenido, se aplicó la prueba t , dónde $t_{cal} < t_{crit}$.

➤ RECUPERACIÓN

Relación entre la concentración recuperada y la concentración real, es decir, es el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad de analito existente en la muestra original.

Para este proceso se realizarán fortificaciones en tres niveles distintos y se analizarán seis veces. La primera fortificación se realizará en nivel cero, mientras que la segunda y la tercera se realizarán en un nivel medio de la curva de calibración. Se debe calcular el rendimiento de recuperación.

$$\%R = \frac{C_{determinada}}{C_{real}} \times 100 \quad (1.29)$$

La recuperación global o veracidad será calculada a partir de la media de los valores individuales en cada punto, cuando las recuperaciones son similares en los diversos niveles.

Criterio de aceptación

El Criterio de aceptación en base al valor obtenido para el porcentaje de recuperación puede utilizarse los criterios de AOAC representados en la Tabla 1.2.:

Tabla 1.2. Criterio de aceptación de recuperación de AOAC [24].

Analito %	Relación de Analito	UNIDAD	RSD (%)	Recuperación promedio (%)
100	1	100%	2,0	98 - 102
10	10^{-1}	10%	2,8	98 – 102
1	10^{-2}	1%	4,0	97 - 103
0,1	10^{-3}	0,10%	5,7	95 – 105
0,01	10^{-4}	100 ppm	8,0	90 - 107
0,001	10^{-5}	10 ppm	11,3	80 – 110
0,0001	10^{-6}	1 ppm	16,0	80 – 110
0,00001	10^{-7}	100 ppb	22,6	80 – 110
0,000001	10^{-8}	10 ppb	32,0	60 – 115
0,0000001	10^{-9}	1 ppb	45,3	40 - 120

• DESVÍO Y PRECISIÓN

➤ DESVÍO

Se entiende como desvío la dispersión de las medidas de una muestra estadística respecto a su media aritmética.

- ✓ **Varianza:** Media aritmética del cuadrado de las desviaciones respecto a la media de una distribución estadística.

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{N} \quad (1.30)$$

- ✓ **Desviación estándar:** Es una medida del grado de dispersión de los datos con respecto a la media, es decir, es la variación esperada con respecto a la media aritmética. Es la raíz cuadrada de la varianza.

$$SD = \sqrt{\sigma^2} \quad (1.31)$$

- ✓ **Desviación estándar relativa o coeficiente de variación:** Es una medida de dispersión relativa que se obtiene dividiendo la desviación estándar entre la media aritmética en un conjunto de datos.

$$RSDr = \frac{SD}{\bar{x}} \quad (1.32)$$

- ✓ **Porcentaje de coeficiente de variación:** Es el coeficiente de variación multiplicado por 100%, estudia la variabilidad de dos conjuntos de datos.

$$\% RSDr = RSD \times 100\% \quad (1.33)$$

➤ PRECISIÓN

- ✓ **Repetibilidad:** Es la precisión bajo las condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones donde los resultados de análisis independientes se obtienen con el mismo método y

parámetros de análisis idénticos en el mismo laboratorio. Los análisis fueron realizados el mismo día por un mismo analista, utilizando los mismos equipos.

Se puede determinar registrando a lo menos 10 mediciones de un analito en un Material de Referencia. Se calcularon la Desviación Estándar (SD) y el porcentaje de coeficiente de variación (CV%).

Criterio de aceptación

El CV% debe ser hasta un máximo de entre 0,5 – 0,6 veces del valor teórico obtenido por $CV_h\%$:

$$CV_h\% = 2^{(1-0,5) \times \log c} \quad (1.34)$$

Donde:

$CV_h\%$ = Coeficiente de variación de Horwitz de repetibilidad

C = Concentración del analito en el MR expresado en potencia 10

✓ **Reproducibilidad:** Es la precisión bajo las condiciones de reproducibilidad, es decir, condiciones donde los resultados de los análisis se obtienen con el mismo método en

condiciones diferentes. Los análisis serán realizados por dos analistas, se repetirá 10 veces en 1 día distintos.

Se puede determinar registrando a lo menos 5 mediciones de un analito en un Material de Referencia. Se calcula la Desviación Estándar (SD) y el porcentaje de coeficiente de variación (CV%).

Criterio de aceptación

El CV% debe ser menor al valor teórico obtenido por $CV_{hi}\%$:

$$CV_{hi}\% = \frac{2^{(1-0,5) \times \log c}}{3} \quad (1.35)$$

Donde

$CV_{hi}\%$ = Coeficiente de variación de Horwitz de reproducibilidad

C = Concentración del analito en el MR expresado en potencia 10

1.8.4. RESUMEN DEL PLAN DE VALIDACIÓN

En la tabla 1.3 se observa el resumen de parámetros y pruebas a realizar descritos en el plan de validación.

Tabla 1.3. Parámetros y pruebas para la validación

Parámetro a Evaluar	Características	Prueba	Número de Análisis	Número de Repeticiones	Criterio
Linealidad	Rango Lineal	Curvas de Calibración	5	5	$r \geq 0,990$ $r^2 \geq 0,995$
Sensibilidad	Pendiente	Curvas de Calibración	5	5	NO APLICA
Límites	Detección	Análisis de blanco matriz	10	1	NO APLICA
	Cuantificación	Análisis de blanco matriz	10	1	NO APLICA
Precisión	Repetibilidad	Análisis de material de referencia	10	1	$CV\% < 0,5-0.6$ ($CV_h\%$)
	Reproducibilidad	Análisis de material de referencia	10	1	$CV\% < CV_{hi}\%$
Veracidad	Sesgo	Análisis de material de referencia	10	1	$t_{cal} < t_{crit}$
	Recuperación	Análisis de material fortificado	3	3	$\%R = 80 - 110\%$ $\%RSD \leq 16\%$

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MUESTRAS

Se realizó un muestreo aleatorio simple de cada leguminosa en tres lugares distintos en la ciudad de Quito ver Figura 2.1., los lugares fueron mercados populares y supermercados de la ciudad (zonas marcadas con círculos rojos). El muestreo se realizó en tres días de distintas semanas seguidas, en cada lugar de muestreo se obtuvo 1 kg. de cada tipo de leguminosa; las muestras fueron: soya, garbanzo y dos variedades de maní (maní negro y maní caramelo). En total se realizó el análisis de 36 muestras por triplicado.



Figura 2.1 Zonas de muestreo señaladas en el mapa de la Ciudad de Quito [25].

En la tabla 2.1 se puede observar la codificación que se le dio a cada lugar de muestreo, la variedad de leguminosa tomada en cada uno de los lugares y el número de análisis realizados por cada lugar de muestreo. Se utilizan códigos para mantener en anonimato el nombre de los lugares de muestreo y el color representa el lugar de muestreo.

Tabla 2.1. Codificación de lugar de muestreo y número análisis de por lugar

Código	Muestra	Lugar	Número de muestreos	Número de análisis por muestreo	Número total de análisis por lugar
GSM	Garbanzo	1	3	3	9
GSC	Garbanzo	2	3	3	9
GSS	Garbanzo	3	3	3	9
MCM	Maní Caramelo	1	3	3	9
MCI	Maní Caramelo	2	3	3	9
MCSC	Maní Caramelo	3	3	3	9
MSM	Maní negro	1	3	3	9
MSS	Maní negro	2	3	3	9
MSC	Maní negro	3	3	3	9
SMI	Soya	1	3	3	9
SSM	Soya	2	3	3	9
SSC	Soya	3	3	3	9

2.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

EQUIPOS

- Molino de micro-operación continua MF 10 basic IKA[®] Werke
- Licuadora Oster 4096-009 con cuchillas de acero inoxidable

MATERIALES

- Muestra de cada leguminosa
- Bolsas plásticas ziplock[®] medianas

PROCEDIMIENTO

Para garbanzo:

- Se cuarteó la muestra hasta obtener aproximadamente 200 g.
- Se molió la muestra utilizando el molino de micro-operación continua a una velocidad constante y que evite el sobrecalentamiento del equipo.
- Se recogió la muestra en una bolsa ziplock previamente etiquetada con el código de lugar, tipo de muestra y fecha de muestreo.
- Se conservó la muestra a temperatura ambiente.

Para soya y maní:

- Se cuarteó la muestra hasta obtener aproximadamente 200 g.
- Se molió la muestra utilizando la licuadora, la cantidad de muestra a moler por cada vez no excedió los 30 g, esto optimizó la molienda obteniendo un tamaño de partícula homogéneo y evitando que la muestra pase a un estado pastoso.
- Se recogió la muestra en una bolsa ziplock previamente etiquetada con el lugar, tipo de muestra y fecha de muestreo.
- Se conservó la muestra a temperatura ambiente.

2.3. MÉTODOS

Se realizó la determinación del contenido de humedad de las variedades de leguminosas estudiadas utilizando el método de la AOAC 925.10 Además se realizó la determinación de minerales mediante espectrofotometría de absorción atómica utilizando el método AOAC 985.35 para calcio, sodio, potasio hierro y cinc después de la calcinación. Los análisis fueron realizados por triplicado en cada muestra [26].

Todos los equipos utilizados para el análisis de las muestras se encontraban dentro de las fechas de calibración, esto se asegura ya que la Escuela de Ciencias Químicas tiene un plan de calibración anual de equipos.

2.3.1. DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD (AOAC 925.10)

La humedad se determina por la variación de peso de la muestra, causada por la evaporación de agua y sustancias volátiles a una temperatura de 130 ± 3 °C por una hora.

EQUIPOS

- Balanza analítica Mettler Toledo[®] ML 204, max 220 g, d=0,1 mg
- Estufa Binder[®] FD 115

MATERIALES

- Espátula de acero inoxidable

- Cápsulas de porcelana
- Desecador de vidrio con sílica gel con indicador de humedad

PROCEDIMIENTO

- Se taró las cápsulas de porcelana a 130 ± 3 °C durante dos horas.
- Se enfriaron las cápsulas de porcelana a temperatura ambiente en el desecador.
- Se pesó las cápsulas de porcelana (Pc).
- Se pesó aproximadamente 1 g de muestra previamente molida en la cápsula de porcelana (Pm).
- Se colocó la cápsula en la estufa.
- Se programó la temperatura a 130 ± 3 °C.
- Se secó la muestra por una hora, el tiempo se mide desde que la estufa alcanza la temperatura de 130 ± 3 °C.
- Se sacaron las cápsulas de porcelana de la estufa y se las enfrió en el desecador hasta que alcanzaron temperatura ambiente.
- Se pesó la cápsula de porcelana las cápsulas de porcelana (Ps).

CÁLCULOS

$$\% H = 100 - \left(\frac{P_s - P_c}{P_m} \times 100 \right) \quad (2.1)$$

Donde:

%H= Porcentaje de humedad

Pc= Peso de la cápsula tarada

Ps= Peso de la cápsula + muestra seca

Pm= Peso de la muestra

2.3.2. CALCINACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE MINERALES (AOAC 985.35)

Consiste en la destrucción de la materia orgánica de la muestra al someterla a temperaturas elevadas con la ayuda de un horno mufla, convirtiendo así a los minerales en óxidos, carbonatos o fosfatos dependiendo de la temperatura que se utilice en el método; dependiendo del tipo de análisis que se quiera efectuar, se realizará un tratamiento a las cenizas procedentes de este método.

EQUIPOS

- Balanza analítica Mettler Toledo[®] ML 204, max 220 g, d=0,1 mg
- Mufla SNOL[®] 10740
- Plancha de calentamiento VELD SCIENTIFICA[®] RC2/169359
- Sorbona LABCONCO CEX 120/ 011016

MATERIALES

- Espátula de acero inoxidable

- Crisoles de porcelana
- Crisoles de cuarzo
- Desecador de vidrio con sílica gel con indicador de humedad
- Embudos de cristal
- Papel filtro cuantitativo
- Balones aforados de 25 mL
- Tubos Falcom de 50 mL

REACTIVOS

- Ácido nítrico concentrado FisherScientific grado de trazas de metales.
- Ácido nítrico 0,1 M, el cual se prepara aforando 14 mL de ácido concentrado grado de trazas de metales a 2000 mL con agua desmineralizada.
- Agua desmineralizada (Conductividad $< 0,067 \mu\text{S/cm}$)

PROCEDIMIENTO

- Se pesó aproximadamente 0,5 g de muestra en un crisol.
- Se llevaron los crisoles a la mufla y se los tapó parcialmente (debe quedar destapada una quinta parte del crisol).
- Se calcinó a 525 °C de 3 a 5 horas.
- Si después de la calcinación las cenizas eran de una tonalidad negra o gris, se agregaban 3 gotas de ácido nítrico concentrado y 5 gotas de agua, se evaporaba a baja temperatura dentro de la sorbona, evitando la pérdida de la muestra y se calcinaban por una hora.
- Se enfriaron los crisoles a temperatura ambiente en un desecador.

- Se añadieron 5 mL de ácido nítrico 0,1 M a cada crisol y se los calentó levemente, hasta la disolución de la ceniza, sobre la plancha de calentamiento.
- Se transfirió el contenido del crisol a un balón aforado de 25 mL.
- Se realizaron tres lavados del crisol con ácido nítrico 0,1 M y se transfirió al balón aforado de 25 mL.
- Se colocó un embudo de cristal con un papel filtro cuantitativo en un tubo Falcom y se filtró la solución aforada.
- Se etiquetó el tubo Falcom con el código de la muestra (Solución madre)

2.3.3. DETERMINACIÓN DE MINERALES

Para la determinación de minerales se utilizó la técnica de espectrofotometría de absorción atómica. En la técnica de atomización por llama, la muestra en solución es nebulizada mediante un flujo de gas oxidante y se forman moléculas monoatómicas gaseosas que son excitadas por un haz de radiación electromagnética de una longitud de onda específica proveniente de una fuente de radiación. Los átomos absorberán radiación generando así una diferencia que permita cuantificarlos.

EQUIPOS

- Espectrómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer[®] AAnalyst 400; Software WinLab32AA.
- Compresor de aire
- Balanza analítica Mettler Toledo[®] ML 204, max 220 g, d=0,1 mg
- Mufla SNOL[®] 10740
- Sorbona LABCONCO CEX 120/ 011016

- Lámpara de sodio de cátodo hueco Perkin Elmer[®]
- Lámpara de potasio de cátodo hueco Perkin Elmer[®]
- Lámpara de hierro de cátodo hueco Perkin Elmer[®]
- Lámpara de cinc de cátodo hueco Perkin Elmer[®]
- Lámpara de calcio de cátodo hueco Perkin Elmer[®]

MATERIALES

- Soluciones madre de las muestras calcinadas
- Balones de aforo de 10, 25, 50 y 100 mL
- Pipetas automáticas
- Puntas para pipetas
- Vasos de precipitación
- Goteros
- Picetas

REACTIVOS

- Agua desmineralizada (Conductividad $< 0,067 \mu\text{S}/\text{cm}$)
- Ácido nítrico 0,1 M, el cual se prepara aforando 14 mL de ácido concentrado grado traza de metales a 2000 mL con agua desmineralizada.
- Ácido clorhídrico concentrado FisherScientific grado traza de metales.
- Óxido de lantano FisherScientific grado analítico.
- Cloruro de cesio FisherScientific grado analítico.
- Estándar de sodio AccuStandard[®], Inc. 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Lot: B9025068-1A

- Estándar de potasio AccuStandard[®], Inc. 1000 µg/mL Lot: B8025056-1A
- Estándar de hierro AccuStandard[®], Inc. 1000 µg/mL Lot: 210065173
- Estándar de calcio AccuStandard[®], Inc. 1000 µg/mL Lot: 211025007
- Estándar de cinc AccuStandard[®], Inc. 1000 µg/mL Lot: 211025060
- Acetileno Grado 2.5

PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR EL ANÁLISIS

- Se abrió la llave de paso del tanque de gas acetileno.
- Se encendió el compresor de aire.
- Se encendió el computador y la impresora del equipo de absorción atómica.
- Se encendió el equipo de absorción atómica.
- Se encendió el extractor de gases.
- Se abrieron las llaves de paso de los gases de las tuberías al equipo.
- Se inició el software WinLab32AA.
- Se seleccionó la técnica de llama.
- Se cargó el método del metal a analizar.
- Se encendió la lámpara del metal a analizar.
- Se esperó a que la energía de la lámpara se mantenga constante por 10 minutos.
- Se abrieron las ventanas de control del equipo en el software.
- Se encendió la llama del mechero.
- Se leyó la solución de sensibilidad, la absorbancia debía ser mayor o muy cercana a 0.200, caso contrario, se requería alinear el mechero.
- Se analizó el blanco, curva de calibración (las concentraciones dependen del metal a analizar).

- Se analizaron las muestras.
- Se imprimieron los resultados
- Se dejó que el equipo absorba solución de lavado (Ácido nítrico 0,1 M) por cinco minutos al finalizar los análisis.
- Se dejó que el equipo absorba agua desmineralizada por cinco minutos.
- Se apagaron la llama y la lámpara.
- Se cerraron las llaves de paso de las tuberías de los gases al equipo.
- Se realizó la purga de los gases.
- Se cerró el software.
- Se apagaron el computador, el equipo, el compresor y la extracción de gases.
- Se cerró la llave del tanque de acetileno.

CONDICIONES DEL EQUIPO

Las condiciones del equipo son propias de cada metal a analizar, son condiciones que vienen programadas por defecto en el equipo; no obstante las mismas se pueden cambiar en función de obtener los mejores resultados al momento del análisis. En la tabla 2.2 se describen las condiciones en las que se debe analizar cada elemento:

Tabla 2.2. Condiciones experimentales utilizadas en el espectrómetro de absorción atómica

	Metal				
Condición	Sodio	Potasio	Calcio	Hierro	Cinc
Longitud de onda (nm)	589,00	766,49	422,67	248,33	213,86
Slit (mm) Ancho/Altura	1,8/0,6	2,7/0,45	2,7/0,6	1,80/1,35	2,7/1,8
Relación Aire/Acetileno (mL / min)	10,00/2,50	10,00/2,50	10,00/2,70	10,00/2,50	10,00/2,50
Comparación de sensibilidad (mg/L)	0,3	1,0	2,0	3,0	0,3

CÁLCULOS

Para obtener la concentración de mineral en mg por cada 100 gramos de alimento se utiliza la siguiente fórmula:

$$C = \frac{R \times FD \times 25 \times 100}{M \times 1000} \quad (2.2)$$

Donde:

C= Concentración de mineral en mg/100g de muestra

R= Respuesta del equipo en mg/L

FD= Factor de dilución

M= Peso de la muestra en g

25= Volumen de la solución madre

100= 100 gramos de alimento

1000= 1000 mL (Respuesta del equipo)

Pero se puede utilizar la fórmula simplificada:

$$C = \frac{R \times FD \times 2,5}{M} \quad (2.3)$$

Donde:

C= Concentración de mineral en mg/100g de muestra

R= Respuesta del equipo en mg/L

FD= Factor de dilución

M= Peso de la muestra en g

2,5= Factor simplificado

2.3.3.1. DETERMINACIÓN DE SODIO (AOAC 985.35)

Para la determinación de sodio se utiliza tanto en curvas, blancos y muestras cloruro de cesio hasta una concentración del 0,5 %. El cloruro de cesio evita que existan interferencias de ionización al actuar como supresor. Para la determinar la concentración del mineral en el alimento, se utilizó la solución madre obtenida después del tratamiento realizado a las cenizas provenientes de la calcinación.

REACTIVOS

- Agua desmineralizada (Conductividad < 0,067 $\mu\text{S}/\text{cm}$)
- Ácido nítrico 0,1 M, el cual se prepara aforando 14 mL de ácido concentrado grado traza de metales a 2000 mL con agua desmineralizada.
- Cloruro de cesio FisherScientific grado analítico.
- Estándar de sodio AccuStandard[®], Inc. 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Lot: B9025068-1A

MATERIALES

- Balones de aforo de 100 mL
- Pipetas automáticas
- Puntas para pipetas
- Vasos de precipitación
- Goteros
- Picetas

SOLUCIÓN DE CLORURO DE CESIO

- En un vaso de precipitación de 100 mL, se pesó 12,7 g de cloruro de cesio.
- Se agregaron 50 mL de agua desmineralizada y se disolvió.
- Se trasvasó a un balón aforado de 100 mL.
- Se lavó el contenido del vaso con 3 porciones de 10 mL de agua desmineralizada.
- Se aforó la solución.

CURVA DE CALIBRACIÓN

- A partir del estándar de 1000 mg/L, se realizó una solución de 20 mg/L, esto se logró midiendo 2 mL del estándar con una pipeta automática y aforando a 100 mL con ácido nítrico 0,1 M. Esta fue la solución madre del estándar.
- Con pipetas automáticas, se tomó la cantidad exacta de solución madre de estándar para obtener 100 mL estándares de las siguientes concentraciones 0,050 mg/L, 0,100 mg/L, 0,125 mg/L, 0,250 mg/L, 0,500 mg/L y 1,000 mg/L.
- Se agregaron 5 mL de la solución de cloruro de cesio con una pipeta automática.
- Se aforó con ácido nítrico 0,1 M.
- El blanco se realizó de la misma manera, sin agregar solución estándar de sodio.

PROCEDIMIENTO

• PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

La preparación de la muestra difiere de cada matriz, las diluciones que se deben realizar para cada una se detallan en la tabla 2.3:

Tabla 2.3. Diluciones para la determinación de sodio en las diferentes matrices:

Matriz	Volumen solución madre (mL)	Volumen de Aforo (mL)	Factor de dilución
Soya	5	50	10
Garbanzo	5	50	10
Maní Negro	5	50	10
Maní Caramelo	5	50	10

Se debe agregar 5 mL de cloruro de cesio por cada 100 mL de solución, el aforo de las soluciones se realiza con ácido nítrico 0,1 M.

2.3.3.2. DETERMINACIÓN DE POTASIO (AOAC 985.35)

Para la determinación de potasio se utiliza tanto en curvas, blancos y muestras cloruro de cesio hasta una concentración del 0,5 %. El cloruro de cesio evita que existan interferencias de ionización al actuar como supresor. Para la determinar la concentración del mineral en el alimento, se utilizó la solución madre obtenida después del tratamiento realizado a las cenizas provenientes de la calcinación.

REACTIVOS

- Agua desmineralizada (Conductividad < 0,067 $\mu\text{S}/\text{cm}$)
- Ácido nítrico 0,1 M, el cual se prepara aforando 14 mL de ácido concentrado grado traza de metales a 2000 mL con agua desmineralizada.
- Cloruro de cesio FisherScientific grado analítico.
- Estándar de potasio AccuStandard[®], Inc. 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Lot: B8025056-1^a

MATERIALES

- Balones de aforo de 100 mL
- Pipetas automáticas
- Puntas para pipetas
- Vasos de precipitación
- Goteros
- Picetas

SOLUCIÓN DE CLORURO DE CESIO

- En un vaso de precipitación de 100 mL, se pesó 12,7 g de cloruro de cesio.
- Se agregaron 50 mL de agua desmineralizada y se disolvió.
- Se trasvasó a un balón aforado de 100 mL.
- Se lavó el contenido del vaso con 3 porciones de 10 mL de agua desmineralizada.
- Se aforó la solución.

CURVA DE CALIBRACIÓN

- A partir del estándar de 1000 mg/L, se preparó una solución de 50 mg/L, esto se logró midiendo 5 mL del estándar con una pipeta automática y aforando a 100 mL con ácido nítrico 0,1 M. Esta fue la solución madre del estándar.

- Con pipetas automáticas, se tomó la cantidad exacta de solución madre de estándar para obtener 100 mL estándares de las siguientes concentraciones 0,125 mg/L, 0,250 mg/L, 0,500 mg/L, 0,750 mg/L, 1,000 mg/L y 1,125 mg/L.
- Se agregaron 5 mL de la solución de cloruro de cesio con pipeta automática.
- Se aforó con ácido nítrico 0,1 M.
- El blanco se preparó de la misma manera, sin agregar solución estándar de potasio.

PROCEDIMIENTO

- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

La preparación de la muestra difiere de cada matriz, las diluciones que se deben realizar para cada una se detallan en la tabla 2.4:

Tabla 2.4. Diluciones para la determinación de potasio en las diferentes matrices:

Matriz	Volumen solución madre (mL)	Volumen de Aforo (mL)	Factor de dilución
Soya	0,125	100	800
Garbanzo	0,125	100	800
Maní Negro	0,500	100	200
Maní Caramelo	0,500	100	200

Se debe agregar 5 mL de cloruro de cesio por cada 100 mL de solución, el aforo de las soluciones se realiza con ácido nítrico 0,1 M.

2.3.3.3. DETERMINACIÓN DE CALCIO (AOAC 985.35)

Para la determinación de calcio se utiliza tanto en curvas, blancos y muestras óxido de lantano hasta una concentración del 0,1 %. El óxido de lantano se utiliza para liberar el calcio de los compuestos formados, en este caso el pirofosfato de calcio, compuesto estable a la degradación de la llama Aire/Acetileno. Para la determinación del mineral se utilizó la solución madre obtenida después del tratamiento realizado a las cenizas provenientes de la calcinación.

REACTIVOS

- Agua desmineralizada (Conductividad < 0,067 $\mu\text{S}/\text{cm}$)
- Ácido nítrico 0,1 M, el cual se prepara aforando 14 mL de ácido concentrado grado traza de metales a 2000 mL con agua desmineralizada.
- Ácido clorhídrico concentrado FisherScientific grado traza de metales.
- Óxido de lantano FisherScientific grado analítico.
- Estándar de calcio AccuStandard[®], Inc. 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Lot: 211025007
- Estándar de cinc AccuStandard[®], Inc. 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Lot: 211025060

MATERIALES

- Balones de aforo de 100 mL
- Pipetas automáticas
- Puntas para pipetas
- Vasos de precipitación

- Goteros
- Picetas

SOLUCIÓN DE ÓXIDO DE LANTANO

- En un vaso de precipitación de 500 mL, se pesó 58,65 g de óxido de lantano.
- Se agregaron lentamente y por las paredes 250 mL de ácido clorhídrico concentrado.
- Se trasvasó a un balón aforado de 1 L.
- Se lavó el vaso de precipitación con tres porciones de 50 mL de agua desmineralizada.
- Se aforó con agua desmineralizada.

CURVA DE CALIBRACIÓN

- A partir del estándar de 1000 mg/L, se realizó una solución de 50 mg/L, esto se logró midiendo 5 mL del estándar con una pipeta automática y aforando a 100 mL con ácido nítrico 0,1 M. Esta fue la solución madre del estándar.
- Con pipetas automáticas, se tomó la cantidad exacta de solución madre de estándar para obtener 100 mL estándares de las siguientes concentraciones 0,250 mg/L, 0,500 mg/L, 0,750 mg/L, 1,000 mg/L y 1,250 mg/L.
- Se agregó 1 mL de la solución de óxido de lantano con una pipeta automática.
- Se aforó con ácido nítrico 0,1 M.
- El blanco se realizó de la misma manera, sin agregar solución estándar de calcio.

PROCEDIMIENTO

- **PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

La preparación de la muestra difiere de cada matriz, las diluciones que se deben realizar para cada una se detallan en la tabla 2.5:

Tabla 2.5. Diluciones para la determinación de calcio en las diferentes matrices:

Matriz	Volumen solución madre (mL)	Volumen de Aforo (mL)	Factor de dilución
Soya	1	100	100
Garbanzo	10	100	10
Maní Negro	10	100	10
Maní Caramelo	10	100	10

Se debe agregar 1 mL de cloruro de lantano por cada 100 mL de solución, el aforo de las soluciones se realiza con ácido nítrico 0,1 M.

2.3.3.4. DETERMINACIÓN DE HIERRO (AOAC 985.35)

Para la determinación de hierro no existen interferencias, por lo que no se utiliza ningún supresor ni agente liberador, por lo que las soluciones madre se analizan directamente.

MATERIALES

- Soluciones madre de las muestras calcinadas
- Balones de aforo de 100 mL

- Pipetas automáticas
- Puntas para pipetas
- Vasos de precipitación
- Goteros
- Picetas

REACTIVOS

- Agua desmineralizada (Conductividad $< 0,067 \mu\text{S/cm}$)
- Ácido nítrico 0,1 M, el cual se prepara aforando 14 mL de ácido concentrado grado traza de metales a 2000 mL con agua desmineralizada.
- Estándar de hierro AccuStandard[®], Inc. 1000 $\mu\text{g/mL}$ Lot: 210065173

CURVA DE CALIBRACIÓN

- A partir del estándar de 1000 mg/L, se preparó una solución de 50 mg/L, esto se logró midiendo 5 mL del estándar con una pipeta automática y aforando a 100 mL con ácido nítrico 0,1 M. Esta fue la solución madre del estándar.
- Con pipetas automáticas, se tomó la cantidad exacta de solución madre de estándar para obtener 100 mL estándares de las siguientes concentraciones 0,125 mg/L, 0,250 mg/L, 0,500 mg/L, 1,000 mg/L y 1,500 mg/L.
- Se aforó con ácido nítrico 0,1 M.
- Se utilizó ácido nítrico 0,1 M como blanco.

PROCEDIMIENTO

- **PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

La preparación de la muestra difiere de cada matriz, las diluciones que se deben realizar para cada una se detallan en la tabla 2.6:

Tabla 2.6. Diluciones para la determinación de hierro en las diferentes matrices:

Matriz	Volumen solución madre (mL)	Volumen de Aforo (mL)	Factor de dilución
Soya	25	25	1
Garbanzo	25	25	1
Maní Negro	25	25	1
Maní Caramelo	25	25	1

2.3.3.5. DETERMINACIÓN DE CINC (AOAC 985.35)

Para la determinación de cinc no existen interferencias, por lo que no se utiliza ningún suspensor ni agente liberador, por lo que las soluciones madre se analizan directamente.

MATERIALES

- Soluciones madre de las muestras calcinadas
- Balones de aforo de 100 mL
- Pipetas automáticas

- Puntas para pipetas
- Vasos de precipitación
- Goteros
- Picetas

REACTIVOS

- Agua desmineralizada (Conductividad $< 0,067 \mu\text{S/cm}$)
- Ácido nítrico 0,1 M, el cual se prepara aforando 14 mL de ácido concentrado grado traza de metales a 2000 mL con agua desmineralizada.
- Estándar de cinc AccuStandard[®], Inc. 1000 $\mu\text{g/mL}$ Lot: 211025060.

CURVA DE CALIBRACIÓN

- A partir del estándar de 1000 mg/L, se preparó una solución de 50 mg/L, esto se logró midiendo 5 mL del estándar con una pipeta automática y aforando a 100 mL con ácido nítrico 0,1 M. Esta fue la solución madre del estándar.
- Con pipetas automáticas, se tomó la cantidad exacta de solución madre de estándar para obtener 100 mL estándares de las siguientes concentraciones: 0,100 mg/L, 0,125 mg/L, 0,250 mg/L, 0,500 mg/L, 1,000 mg/L.
- Se aforó con ácido nítrico 0,1 M.
- Se utilizó ácido nítrico 0,1 M como blanco.

PROCEDIMIENTO

- **PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

La preparación de la muestra difiere de cada matriz, las diluciones que se deben realizar para cada una se detallan en la tabla 2.7:

Tabla 2.7. Diluciones para la determinación de cinc en las diferentes matrices:

Matriz	Volumen solución madre (mL)	Volumen de Aforo (mL)	Factor de dilución
Soya	25	25	1
Garbanzo	25	25	1
Maní Negro	25	25	1
Maní Caramelo	25	25	1

2.3.4.DIGESTIÓN VÍA HÚMEDA ASISTIDA POR MICROONDAS

EQUIPOS

- Balanza analítica Mettler Toledo[®] ML 204, max 220 g, d=0,1 mg
- Microondas CEM[®] MARS6 230/60 910900
- Sorbona LABCONCO CEX 120/ 011016

MATERIALES

- Naves para pesar.
- Espátula de acero inoxidable

- Vasos de digestión de teflón
- Balones aforados de 25mL
- Pipetas automáticas
- Puntas para pipetas
- Vasos de precipitación
- Picetas
- Papel filtro cuantitativo
- Embudos de cristal
- Tubos Falcom

REACTIVOS

- Agua desmineralizada (Conductividad $< 0,067 \mu\text{S/cm}$)
- Ácido nítrico concentrado grado traza de metales a 2000 mL con agua desmineralizada.
- Peróxido de hidrógeno grado analítico

PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- Se pesó 0,5 de harina de arroz en una nave para pesar, se encendió la balanza con la nave con muestra.
- Se transfirió el contenido de la nave a un vaso de digestión.
- Se pesó la nave y se anotó el peso de muestra que entró al vaso de digestión.
- Se agregaron 5 mL de ácido nítrico concentrado.
- Se agregaron 3 mL de peróxido de hidrógeno.
- Se cerró el vaso de digestión.

DIGESTIÓN DE LA MUESTRA

- Se lavó el vial con dos porciones de 5 mL de agua destilada.
- Se transfirió el contenido a un balón aforado de 25 mL y se aforó con agua.
- Se filtró el contenido a través de papel filtro.
- Se guardaron las muestras en tubos Falcom y se las etiquetó.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó el análisis de humedad y la determinación de sodio, potasio, hierro calcio y cinc en tres leguminosas: soya, garbanzo y dos variedades de maní, que fueron muestreadas en mercados y supermercados del Distrito Metropolitano de Quito.

Se obtuvieron los estadísticos: media, desviación estándar y coeficiente de variación de los resultados obtenidos, mismos que sirven para realizar las pruebas de significación para poder determinar si existen diferencias significativas entre muestras, entre variedades y con la tabla de composición de alimentos ecuatorianos de 1965.

Se realizó la validación de la modificación del método de la AOAC 985.35 para la determinación de sodio en alimentos por espectrofotometría de absorción atómica después de la calcinación, por determinación de sodio en alimentos por espectrofotometría de absorción atómica después de la digestión asistida por microondas. La matriz utilizada para la validación fue el arroz debido al bajo contenido de sodio que presenta. En la tabla 3.1 se puede observar una comparación de contenido de humedad, proteína, grasa y sodio entre arroz, maní, soya y garbanzo.

Tabla 3.1. Comparación de parámetros entre arroz, maní, soya y garbanzo [27,28]

Alimento	% Hidratos de Carbono (Carbohidratos)	% Proteína	% Grasa	Sodio mg/100 g
Arroz	77,7	6,8	0,6	6
Maní	16,13	25,80	49,24	18
Soya	3,1	37,3	20,6	4
Garbanzo	48,6	19,8	3,4	27

Como se puede observar en la Tabla 3.1, el arroz y la soya tienen el mismo contenido de sodio por cada 100 g de matriz teóricamente, pero al realizar análisis previos se determinó que las muestras de arroz elegidas presentaban un contenido de sodio de promedio de 8,28 mg/100g de alimento (ver Tabla 3.53) frente a un contenido promedio de sodio en la soya de 26,04 mg/100g de alimento (ver tabla 3.7).

3.1. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este trabajo son presentados a continuación:

3.1.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Del contenido de humedad del alimento depende el contenido de minerales en la muestra seca, es por esto, que es de gran importancia determinar este parámetro. En la tabla 3.2 se

detalla la norma de requisitos y el contenido de humedad de cada una de las leguminosas estudiadas.

Tabla 3.2. Normas de requisitos de leguminosas

Leguminosa	Contenido de Humedad %	Norma
Maní	Máximo 9	NTE * INEN** 2722
Soya	Máximo 13	NTE INEN 452:1996
Garbanzo***	Máximo 16	CODEX STAN 171-1989

* Norma Técnica Ecuatoriana

** Servicio Nacional Ecuatoriano de Normalización

*** El INEN no posee norma técnica para el garbanzo, es por eso que se ha tomado como referencia la norma del CODEX

En la tabla 3.3 se presentan los resultados promedios del contenido de humedad en porcentaje de cada leguminosa ya que el análisis se realizó por triplicado y por tres semanas:

Tabla 3.3. Resultados de la determinación del porcentaje de humedad

Muestra	Humedad %			
	Lugar *	Semana 1	Semana 2	Semana 3
Garbanzo	GSM	8,32	8,23	8,27
	GSC	10,27	10,32	10,45
	GSS	8,52	8,56	8,03

	Humedad %			
Muestra	Lugar *	Semana 1	Semana 2	Semana 3
Maní Caramelo	MCM	5,63	5,22	5,61
	MCI	5,57	5,39	5,53
	MCSC	4,95	5,04	4,97
Maní Negro	MSM	6,16	6,17	6,10
	MSS	6,84	6,02	6,32
	MSC	6,77	6,53	6,49
Soya	SMI	9,29	9,95	9,97
	SSM	9,34	9,78	9,28
	SSC	9,19	8,89	9,16

* Los códigos de lugar para todos los resultados expresados se los encuentra en la Tabla 2.1.

En la tabla 3.4 se presentan los resultados promedios semanales y por muestra del contenido de humedad en porcentaje, este dato sirve para comparar con el dato de la norma técnica:

Tabla 3.4. Resultados promedio de la determinación del porcentaje de humedad

	Humedad %		
Muestra	Lugar	Promedio Semanal	Promedio Total
Garbanzo	GSM	8,27	9,00
	GSC	10,35	
	GSS	8,37	

	Humedad %		
Muestra	Lugar	Promedio Semanal	Promedio Total
Maní Caramelo	MCM	5,49	5,32
	MCI	5,50	
	MCSC	4,99	
Maní Negro	MSM	6,14	6,38
	MSS	6,39	
	MSC	6,60	
Soya	SMI	9,73	9,43
	SSM	9,47	
	SSC	9,08	

Al analizar los datos de la tabla 3.4 se determinó que la leguminosa que mayor contenido de humedad tiene es la soya con un promedio de 9,43 %; la segunda leguminosa que mayor contenido de humedad posee es el garbanzo con un promedio de 9,00% y por último siguen le siguen el Maní Negro y el Maní Caramelo con 6,38 % y 5,32% respectivamente.

Al comparar los datos de humedad obtenidos experimentalmente en la tabla 3.4 con los datos de humedad máximos que indican las normas, se observa que ninguna de las leguminosas supera el límite máximo de humedad.

Se puede observar que promedio semanal más alto es el del lugar GSC, esto es debido a que la muestra proviene de un mercado popular y el alimento pudo haberse encontrado más fresca, o existió un menor tiempo de secado. En las muestras de garbanzo que vienen en empaque (muestra de supermercado), el contenido de humedad fue menor, lo que puede

significar que el secado se llevó a cabo por más tiempo, debido a que los criterios de aceptación son más estrictos para los supermercados o el alimento era menos fresco.

En la tabla 3.5 se presentan los datos de desviación estándar y coeficiente de variación de las muestras, tanto semanal como total

Tabla 3.5. Desviación estándar y coeficiente de variación del porcentaje de humedad

Muestra	Lugar	Semana 1	Semana 2	Semana 3	SD Semanal	SD de la muestra	% CV Total
Garbanzo	GSM	0,16	0,04	0,07	0,10	1,00	11,07
	GSC	0,19	0,36	0,16	0,24		
	GSS	0,12	0,08	0,12	0,27		
Maní Caramelo	MCM	0,04	0,06	0,02	0,20	0,27	5,14
	MCI	0,02	0,05	0,03	0,08		
	MCSC	0,04	0,07	0,05	0,07		
Maní Negro	MSM	0,09	0,09	0,08	0,08	0,29	4,61
	MSS	0,11	0,08	0,01	0,37		
	MSC	0,04	0,13	0,03	0,15		
Soya	SMI	0,07	0,06	0,08	0,34	1,00	3,91
	SSM	0,04	0,02	0,05	0,24		
	SSC	0,08	0,05	0,10	0,16		

En la tabla 3.5. se puede observar que el mayor coeficiente de variación pertenece a muestra de garbanzo, esto es debido a que sus valores no están próximos a la media. Para determinar

la desviación total de la muestra se deben utilizar todos los datos de la misma, debido a que la desviación estándar es un estadístico sesgado, es decir depende del número de muestras.

Por otro lado, la soya es la leguminosa que menor coeficiente de variación presenta, es decir que los datos entre lugares de muestreo y entre días de muestreo son los que menor dispersión presentan respecto a su media.

3.1.2. DETERMINACIÓN DE SODIO

La determinación de sodio fue realizada en 4 variedades de leguminosas, en total se realizaron 108 análisis, las muestras fueron tomadas en 3 lugares, en tres días distintos y se analizaron por triplicado. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 3.6:

Tabla 3.6. Resultados de la concentración de sodio en las leguminosas

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de sodio en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Garbanzo	GSM	1	27,99	27,45	23,12
		2	27,87	29,85	22,79
		3	24,99	23,74	23,76
	GSC	1	9,64	9,18	10,10
		2	14,82	19,06	20,12
		3	21,52	15,81	19,96

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de sodio en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
	GSS	1	24,66	23,83	23,44
		2	22,66	19,70	23,56
		3	18,22	18,86	16,23
Maní Caramelo	MCM	1	5,52	8,61	7,65
		2	7,69	5,35	8,26
		3	9,69	5,76	6,60
	MCI	1	8,45	7,60	8,78
		2	17,34	16,71	10,83
		3	10,29	8,12	7,29
	MCSC	1	5,28	10,41	9,49
		2	9,63	10,41	10,47
		3	10,02	9,46	9,42
Maní Negro	MSM	1	16,55	16,86	16,33
		2	15,96	17,00	16,20
		3	16,98	15,65	17,36
	MSS	1	15,17	16,67	16,87
		2	17,40	17,00	15,10
		3	16,20	15,65	17,59
	MSC	1	16,55	16,86	17,50
		2	16,10	16,29	16,15
		3	17,41	17,74	16,07

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de sodio en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Soya	SMI	1	26,19	20,11	25,60
		2	26,14	22,90	22,03
		3	20,29	20,57	19,90
	SSM	1	35,13	29,65	33,51
		2	28,57	29,14	30,94
		3	25,56	31,45	33,69
	SSC	1	20,33	20,64	24,36
		2	22,38	25,80	20,99
		3	21,33	28,10	37,72

A partir de los datos obtenidos en la tabla 3.6, se pueden obtener los promedios por muestra y los promedios semanales de las variedades estudiadas, los mismos se representan en la tabla 3.7:

Tabla 3.7. Resultados promedio de la determinación de sodio en mg/ 100 g de muestra

Cantidad de sodio en mg/100 g de muestra				
Muestra	Lugar	Promedio	Promedio Total alimento tal cual presentado	Promedio Total alimento seco
Garbanzo	GSM	25,73	20,85	22,91
	GSC	15,58		
	GSS	21,24		

Cantidad de sodio en mg/100 g de muestra				
Muestra	Lugar	Promedio	Promedio Total alimento tal cual presentado	Promedio Total alimento seco
Maní Caramelo	MCM	7,24	9,08	9,59
	MCI	10,60		
	MCSC	9,40		
Maní Negro	MSM	16,54	16,56	17,69
	MSS	16,41		
	MSC	16,74		
Soya	SMI	22,64	26,04	28,75
	SSM	30,85		
	SSC	24,63		

Como se puede observar en la tabla 3.7 la leguminosa que más contenido de sodio posee, en alimento tal como presentado, es la soya con un promedio de 26,04 mg por cada 100 gramos de muestra. La siguiente especie es el garbanzo con 20,85 mg por cada 100 gramos de muestra y por último están el maní caramelo y el maní negro con 9,08 y 16,56 mg por cada 100 gramos de muestra respectivamente.

En la tabla 3.8 se presentan los datos de desviación estándar y coeficiente de variación de las muestras, tanto semanal como total:

Tabla 3.8. Desviación estándar y coeficiente de variación del contenido de sodio en las leguminosas estudiadas

Muestra	Lugar	Semana 1	Semana 2	Semana 3	SD Semanal	SD de la muestra	% CV Total
Garbanzo	GSM	2,67	3,64	0,72	2,59	5,50	26,37
	GSC	0,46	0,72	0,46	4,93		
	GSS	0,62	0,46	2,80	3,02		
Maní Caramelo	MCM	1,58	2,80	2,95	3,33	2,83	31,17
	MCI	0,61	2,95	0,62	3,82		
	MCSC	2,73	0,62	2,02	1,60		
Maní Negro	MSM	0,27	2,02	1,37	0,56	0,72	4,33
	MSS	0,93	1,37	1,58	0,93		
	MSC	0,49	1,58	1,54	0,66		
Soya	SMI	3,35	1,54	2,07	2,69	5,22	20,04
	SSM	2,82	2,07	0,61	2,99		
	SSC	2,24	0,61	3,59	5,57		

En la tabla 3.8 se puede observar que la muestra con mayor coeficiente de variación es la de maní caramelo con un 31,17%, lo que significa que las medidas se encuentran dispersas de la media. Por otro lado, la muestra con menor coeficiente de variación y con menor desviación estándar total es la de maní negro, con un 4,33 y 0,72% respectivamente.

3.1.3. DETERMINACIÓN DE POTASIO

La determinación de potasio fue realizada en 4 variedades de leguminosas, en total se realizaron 108 análisis, las muestras fueron tomadas en 3 lugares, en tres días distintos y se analizaron por triplicado. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 3.9:

Tabla 3.9. Resultados de la concentración de potasio en las leguminosas

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de potasio en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Garbanzo	GSM	1	1378,75	1201,43	1495,26
		2	1508,34	1407,42	1366,37
		3	1415,20	1385,13	1425,90
	GSC	1	1582,59	1590,11	1841,12
		2	1724,47	1489,15	1499,41
		3	1345,62	1475,90	1283,02
Garbanzo	GSS	1	1505,59	1891,48	1317,55
		2	1513,96	1145,44	1265,44
		3	1816,82	1693,12	1618,84
Maní Caramelo	MCM	1	916,64	939,28	938,20
		2	921,56	874,73	871,70
		3	869,36	911,60	913,50
	MCI	1	888,77	974,01	947,34
		2	970,42	871,43	940,04
		3	942,86	918,80	950,76

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de potasio en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
	MCSC	1	869,48	816,81	872,17
		2	910,53	876,11	858,65
		3	817,46	859,82	856,72
Maní Negro	MSM	1	901,37	894,32	979,72
		2	984,44	958,45	903,42
		3	907,67	938,32	950,39
	MSS	1	925,42	1004,40	944,00
		2	942,28	965,44	903,52
		3	932,96	915,74	963,95
	MSC	1	903,11	896,56	993,67
		2	953,48	967,77	941,44
		3	924,08	931,15	939,97
Soya	SMI	1	1855,30	2015,83	2801,07
		2	2125,53	2538,24	2206,74
		3	2181,54	2016,87	2044,57
	SSM	1	1937,24	1655,49	1882,99
		2	1606,47	1823,19	2574,85
		3	1054,11	1734,90	1306,55
	SSC	1	2503,48	2879,82	1945,54
		2	2222,65	2410,43	2189,81
		3	2717,83	2672,18	2867,32

A partir de los datos obtenidos en la tabla 3.9, se pueden obtener los promedios por muestra y los promedios semanales de las variedades estudiadas, los mismos se representan en la tabla 3.10:

Tabla 3.10. Resultados promedio de la determinación de potasio en mg/ 100 g de muestra

Cantidad de potasio en mg/100 g de muestra				
Muestra	Lugar	Promedio	Promedio Total alimento tal cual presentado	Promedio Total alimento seco
Garbanzo	GSM	1398,20	1488,28	1635,48
	GSC	1536,82		
	GSS	1529,80		
Maní Caramelo	MCM	906,29	899,95	950,52
	MCI	933,29		
	MCSC	859,75		
Maní Negro	MSM	935,34	939,52	1003,55
	MSS	944,19		
	MSC	939,03		
Soya	SMI	2198,41	2139,65	2362,43
	SSM	1730,64		
	SSC	2489,89		

Como se puede observar en la tabla 3.10 la leguminosa que más contenido de potasio posee, en alimento tal como presentado, es la soya con un promedio de 2139,65 mg por cada 100 gramos de muestra. La siguiente especie es el garbanzo con 1488,28 mg por cada 100

gramos de muestra y por último están el maní caramelo y el maní negro con 899,95 y 939,52 mg por cada 100 gramos de muestra respectivamente.

En la tabla 3.11 se presentan los datos de desviación estándar y coeficiente de variación de las muestras, tanto semanal como total:

Tabla 3.11. Desviación estándar y coeficiente de variación del contenido de potasio en las leguminosas estudiadas

Muestra	Lugar	Semana 1	Semana 2	Semana 3	SD Semanal	SD de la muestra	% CV Total
Garbanzo	GSM	147,96	73,06	21,14	88,72	188,63	12,67
	GSC	147,14	21,14	147,14	173,60		
	GSS	292,59	147,14	133,00	252,81		
Maní Caramelo	MCM	12,78	133,00	98,40	239,40	42,85	4,76
	MCI	43,60	98,40	292,59	34,81		
	MCSC	31,21	292,59	187,96	29,02		
Maní Negro	MSM	47,40	187,96	100,01	34,95	30,97	3,30
	MSS	41,29	100,01	12,78	30,44		
	MSC	54,27	12,78	27,96	30,43		
Soya	SMI	506,11	27,96	24,95	294,12	465,03	21,73
	SSM	149,49	24,95	43,60	425,12		
	SSC	470,07	43,60	50,71	324,80		

En la tabla 3.12 se puede observar que la muestra con mayor coeficiente de variación es la soya con un 21,73%, lo que significa que las medidas se encuentran dispersas de la media.

Por otro lado, la muestra con menor coeficiente de variación y con menor desviación estándar total es la de maní negro, con un 3,30 y 30,97 % respectivamente.

3.1.4. DETERMINACIÓN DE CALCIO

La determinación de calcio fue realizada en 4 variedades de leguminosas, en total se realizaron 108 análisis, las muestras fueron tomadas en 3 lugares, en tres días distintos y se analizaron por triplicado. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 3.12:

Tabla 3.12. Resultados de la concentración de calcio en las leguminosas

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de calcio en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Garbanzo	GSM	1	62,05	63,73	52,91
		2	63,59	64,51	59,65
		3	65,00	67,59	62,92
	GSC	1	54,20	60,00	64,61
		2	62,73	62,56	61,44
		3	60,78	61,51	68,92
	GSS	1	53,46	55,98	64,11
		2	59,82	52,02	59,33
		3	59,86	52,22	59,02
Maní Caramelo	MCM	1	48,98	45,87	48,41
		2	53,04	44,05	49,49
		3	48,62	43,66	41,23

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de calcio en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
	MCI	1	38,85	42,71	45,69
		2	49,27	50,26	39,25
		3	52,99	46,85	46,64
	MCSC	1	43,33	36,33	34,77
		2	45,43	48,32	36,78
		3	32,49	29,95	32,24
Maní Negro	MSM	1	59,76	56,52	60,05
		2	56,55	57,28	57,52
		3	61,58	57,10	60,02
	MSS	1	58,78	57,42	57,94
		2	53,90	59,37	57,35
		3	57,31	57,30	57,79
	MSC	1	55,55	54,75	61,60
		2	60,79	53,17	59,50
		3	56,34	53,85	60,46
Soya	SMI	1	124,91	129,52	127,56
		2	136,70	141,17	123,33
		3	123,61	134,49	164,49
	SSM	1	144,71	158,84	149,65
		2	170,26	153,08	173,65
		3	142,27	157,04	160,39

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de calcio en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Soya	SSC	1	157,56	179,04	128,45
		2	166,51	146,52	187,54
		3	218,82	213,09	185,06

A partir de los datos obtenidos en la tabla 3.12, se pueden obtener los promedios por muestra y los promedios semanales de las variedades estudiadas, los mismos se representan en la tabla 3.13:

Tabla 3.13. Resultados promedio de la determinación de calcio en mg/ 100 g de muestra

Cantidad de calcio en mg/100 g de muestra				
Muestra	Lugar	Promedio	Promedio Total alimento tal cual presentado	Promedio Total alimento seco
Garbanzo	GSM	62,44	60,54	66,53
	GSC	61,86		
	GSS	57,32		
Maní Caramelo	MCM	61,86	51,58	54,48
	MCI	47,04		
	MCSC	45,84		
Maní Negro	MSM	37,74	51,23	54,72
	MSS	58,49		
	MSC	57,46		
Soya	SMI	57,33	122,38	135,12
	SSM	133,98		
	SSC	175,84		

Como se puede observar en la tabla 3.13 la leguminosa que más contenido de calcio posee, como alimento tal como presentado, es la soya con un promedio de 122,38 mg por cada 100 gramos de muestra. La siguiente especie es el garbanzo con 60,54 mg por cada 100 gramos de muestra y por último están el maní caramelo y el maní negro con 51,58 y 51,23 mg por cada 100 gramos de muestra respectivamente.

En la tabla 3.14 se presentan los datos de desviación estándar y coeficiente de variación de las muestras, tanto semanal como total:

Tabla 3.14. Desviación estándar y coeficiente de variación del contenido de calcio en las leguminosas estudiadas

Muestra	Lugar	Semana 1	Semana 2	Semana 3	SD Semanal	SD de la muestra	% CV Total
Garbanzo	GSM	5,82	2,58	2,34	4,17	4,56	7,53
	GSC	5,21	2,34	5,21	3,91		
	GSS	5,56	5,21	0,70	4,13		
Maní Caramelo	MCM	1,66	0,70	4,50	4,75	6,46	14,84
	MCI	3,43	4,50	5,56	4,83		
	MCSC	4,56	5,56	4,37	6,45		
Maní Negro	MSM	1,96	4,37	4,19	1,87	2,31	4,00
	MSS	0,69	4,19	1,66	1,52		
	MSC	3,74	1,66	4,52	3,26		

Muestra	Lugar	Semana 1	Semana 2	Semana 3	SD Semanal	SD de la muestra	% CV Total
Soya	SMI	2,31	4,52	3,76	13,01	25,69	16,52
	SSM	7,17	3,76	3,43	10,63		
	SSC	25,39	3,43	6,09	29,57		

En la tabla 3.14 se puede observar que la muestra con mayor coeficiente de variación es la soya con un 16,52 %, lo que significa que las medidas se encuentran dispersas de la media. Por otro lado, la muestra con menor coeficiente de variación y con menor desviación estándar total es la de maní negro, con un 4,00 y 2,31 % respectivamente.

3.1.5. DETERMINACIÓN DE HIERRO

La determinación de hierro fue realizada en 4 variedades de leguminosas, en total se realizaron 108 análisis, las muestras fueron tomadas en 3 lugares, en tres días distintos y se analizaron por triplicado. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 3.15:

Tabla 3.15. Resultados de la concentración de hierro en las leguminosas

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de hierro en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Garbanzo	GSM	1	2,84	2,65	2,36
		2	3,23	3,10	2,79
		3	2,77	2,47	3,04

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de hierro en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
	GSC	1	2,20	1,91	1,97
		2	1,64	1,76	1,56
		3	1,87	1,64	1,59
	GSS	1	3,23	3,19	3,00
		2	2,30	2,26	2,17
		3	2,63	2,55	2,78
Maní Caramelo	MCM	1	1,71	1,65	2,17
		2	1,86	1,54	3,69
		3	2,79	2,26	1,79
	MCI	1	1,42	1,42	1,48
		2	1,67	2,57	1,39
		3	1,35	1,32	1,43
	MCSC	1	3,12	1,74	1,22
		2	1,67	2,02	1,33
		3	1,49	1,66	1,12
Maní Negro	MSM	1	4,58	4,57	4,66
		2	4,84	4,72	4,45
		3	4,51	4,54	4,65
	MSS	1	4,64	4,55	4,72
		2	4,49	4,51	4,11
		3	4,45	4,30	4,50
	MSC	1	4,63	4,32	4,86

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de hierro en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
		2	4,54	4,33	4,50
		3	4,45	4,59	4,65
Soya	SMI	1	3,75	3,82	3,74
		2	3,74	4,34	3,80
		3	4,00	3,62	3,87
	SSM	1	2,66	3,05	2,67
		2	2,96	2,53	2,62
		3	2,61	3,01	3,09
	SSC	1	3,20	3,67	3,66
		2	3,66	3,12	3,68
		3	4,01	3,67	3,85

A partir de los datos obtenidos en la tabla 3.15, se pueden obtener los promedios por muestra y los promedios semanales de las variedades estudiadas, los mismos se representan en la tabla 3.16:

Tabla 3.16. Resultados promedio de la determinación de hierro en mg/ 100 g de muestra

Cantidad de hierro en mg/100 g de muestra				
Muestra	Lugar	Promedio	Promedio Total alimento tal cual presentado	Promedio Total alimento seco
Garbanzo	GSM	2,81	2,43	2,67
	GSC	1,79		
	GSS	2,68		
Maní Caramelo	MCM	1,79	1,84	1,94
	MCI	2,16		
	MCSC	1,56		
Maní Negro	MSM	1,71	3,60	3,85
	MSS	4,61		
	MSC	4,48		
Soya	SMI	4,54	4,00	4,42
	SSM	3,85		
	SSC	3,61		

Como se puede observar en la tabla 3.15 la leguminosa que más contenido de hierro posee, en alimento tal como presentado, es la soya con un promedio de 4,00 mg por cada 100 gramos de muestra. La siguiente especie es el maní negro con 3,60 mg por cada 100 gramos de muestra y por último están el maní caramelo y el garbanzo con 1,84 y 2,43 mg por cada 100 gramos de muestra respectivamente. En la tabla 3.17 se presentan los datos de desviación estándar y coeficiente de variación de las muestras, tanto semanal como total:

Tabla 3.17. Desviación estándar y coeficiente de variación del contenido de hierro en las leguminosas estudiadas

Muestra	Lugar	Semana 1	Semana 2	Semana 3	SD Semanal	SD de la muestra	% CV Total
Garbanzo	GSM	0,24	0,23	0,28	0,29	0,55	22,53
	GSC	0,15	0,28	0,15	0,21		
	GSS	0,12	0,15	0,10	0,40		
Maní Caramelo	MCM	0,29	0,10	0,15	0,70	0,61	33,74
	MCI	0,04	0,15	0,12	0,39		
	MCSC	0,98	0,12	0,07	0,60		
Maní Negro	MSM	0,05	0,07	0,12	0,12	0,16	3,57
	MSS	0,08	0,12	0,29	0,18		
	MSC	0,27	0,29	1,16	0,17		
Soya	SMI	0,05	1,16	0,50	0,21	0,51	15,04
	SSM	0,22	0,50	0,04	0,22		
	SSC	0,27	0,04	0,62	0,28		

En la tabla 3.17 se puede observar que la muestra con mayor coeficiente de variación es el maní caramelo con un 33,74 %, lo que significa que las medidas se encuentran dispersas de la media. Por otro lado, la muestra con menor coeficiente de variación y con menor desviación estándar total es la de maní negro, con un 3,57 y 0,16 % respectivamente.

3.1.6. DETERMINACIÓN DE CINC

La determinación de cinc fue realizada en 4 variedades de leguminosas, en total se realizaron 108 análisis, las muestras fueron tomadas en 3 lugares, en tres días distintos y se analizaron por triplicado. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 3.18:

Tabla 3.18. Resultados de la concentración de cinc en las leguminosas

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de cinc en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Garbanzo	GSM	1	3,74	3,31	3,50
		2	3,23	3,12	2,89
		3	3,89	4,50	4,51
	GSC	1	3,35	3,13	3,03
		2	2,98	3,27	3,13
		3	2,94	3,29	3,15
	GSS	1	3,16	2,99	3,41
		2	3,12	3,98	3,54
		3	3,12	3,26	3,25
Maní Caramelo	MCM	1	3,62	3,77	3,69
		2	3,23	3,10	3,37
		3	3,01	3,20	2,92
	MCI	1	3,01	2,93	3,42
		2	4,35	3,67	4,01
		3	3,11	3,44	3,62

Muestra	Lugar	Semana	Cantidad de cinc en mg/100 g de muestra		
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
	MCSC	1	3,36	2,84	2,76
		2	2,38	2,42	2,43
		3	2,96	2,94	2,19
Maní Negro	MSM	1	3,66	3,58	3,67
		2	3,72	3,67	3,37
		3	3,63	3,66	3,84
	MSS	1	3,69	3,69	3,68
		2	3,66	3,65	3,41
		3	3,43	3,45	3,81
	MSC	1	3,66	3,61	3,89
		2	3,59	3,35	3,71
		3	3,59	3,65	3,83
Soya	SMI	1	3,87	3,62	3,67
		2	3,74	3,31	3,27
		3	3,85	4,12	4,26
	SSM	1	3,68	3,68	4,53
		2	3,90	3,88	4,14
		3	3,40	3,87	4,52
	SSC	1	3,90	4,43	3,97
		2	3,87	3,40	3,96
		3	4,41	4,00	4,03

A partir de los datos obtenidos en la tabla 3.18, se pueden obtener los promedios por muestra y los promedios semanales de las variedades estudiadas, los mismos se representan en la tabla 3.19:

Tabla 3.19. Resultados promedio de la determinación de cinc en mg/ 100 g de muestra

Cantidad de cinc en mg/100 g de muestra				
Muestra	Lugar	Promedio	Promedio Total alimento tal cual presentado	Promedio Total alimento seco
Garbanzo	GSM	3,63	3,36	3,69
	GSC	3,14		
	GSS	3,32		
Maní Caramelo	MCM	3,14	3,32	3,51
	MCI	3,32		
	MCSC	3,51		
Maní Negro	MSM	2,70	3,32	3,55
	MSS	3,64		
	MSC	3,61		
Soya	SMI	3,65	3,80	4,20
	SSM	3,74		
	SSC	4,00		

Como se puede observar en la tabla 3.19 la leguminosa que más contenido de cinc posee es la soya con un promedio de 3,80 mg por cada 100 gramos de muestra. La siguiente especie es el garbanzo con 3,36 mg por cada 100 gramos de muestra y por último están el maní caramelo y el maní con 3,32 mg por cada 100 gramos el cada una de las muestras.

En la tabla 3.20 se presentan los datos de desviación estándar y coeficiente de variación de las muestras, tanto semanal como total:

Tabla 3.20. Desviación estándar y coeficiente de variación del contenido de calcio en las leguminosas estudiadas

Muestra	Lugar	Semana 1	Semana 2	Semana 3	SD Semanal	SD de la muestra	% CV Total
Garbanzo	GSM	0,22	0,18	0,36	0,58	0,43	12,59
	GSC	0,16	0,36	0,16	0,14		
	GSS	0,21	0,16	0,15	0,30		
Maní Caramelo	MCM	0,08	0,15	0,18	0,27	0,51	16,28
	MCI	0,26	0,18	0,21	0,47		
	MCSC	0,32	0,21	0,43	0,37		
Maní Negro	MSM	0,05	0,43	0,08	0,12	0,14	3,71
	MSS	0,00	0,08	0,08	0,14		
	MSC	0,15	0,08	0,14	0,15		
Soya	SMI	0,13	0,14	0,14	0,33	0,35	8,56
	SSM	0,49	0,14	0,26	0,38		
	SSC	0,28	0,26	0,34	0,30		

En la tabla 3.20 se puede observar que la muestra con mayor coeficiente de variación es el maní caramelo con un 33,74 %, lo que significa que las medidas se encuentran dispersas de la media. Por otro lado, la muestra con menor coeficiente de variación y con menor desviación estándar total es la de maní negro, con un 3,57 y 0,16 % respectivamente.

Finalmente en la tabla 3.21 y en la tabla 3.22 se presenta un resumen del promedio de los parámetros estudiados en cada leguminosa, en alimento tal como presentado, y los rangos de cada parámetro analizado respectivamente. En la tabla 3.23 se indican los límites obtenidos a partir de las mediciones realizadas.

Tabla 3.21. Resumen de los promedios y desviaciones estándar relativa de los parámetros estudiados en cada leguminosa

Leguminosa	Estadístico	Humedad (%)	Sodio (mg/L)	Potasio (mg/L)	Calcio (mg/L)	Hierro (mg/L)	Cinc (mg/L)
Garbanzo	Promedio	9,00	20,85	1488,28	60,54	2,43	3,36
	%RSD	11,07	26,37	12,67	7,53	22,53	12,59
Maní Caramelo	Promedio	5,32	9,08	8,9995	51,58	1,84	3,32
	%RSD	5,14	31,17	4,76	14,84	33,74	16,28
Maní Negro	Promedio	6,38	16,56	939,52	51,23	3,60	3,32
	%RSD	4,61	4,33	3,30	4,00	3,57	3,71
Soya	Promedio	9,43	26,04	2139,65	122,38	4,00	3,80
	%RSD	3,91	20,04	21,73	16,52	15,04	8,56

Como se puede observar en la Tabla 3.21, los valores de %RSD son considerablemente altos, a excepción del maní negro que son menores al 5,00%, la razón por la cual sucede esto, es que no todas las muestras provienen del mismo proveedor, no han crecido en el mismo tipo de suelo y con las mismas condiciones climáticas, por lo que todos estos factores afectan a la desviación relativa; por otro lado, puede ser que el maní negro haya venido del mismo proveedor y es por eso que su desviación estándar relativa es considerablemente baja respecto a las demás.

Tabla 3.22. Resumen de los rangos de los parámetros estudiados en cada leguminosa

Leguminosa	Rango	Humedad (%)	Sodio (mg/L)	Potasio (mg/L)	Calcio (mg/L)	Hierro (mg/L)	Cinc (mg/L)
Garbanzo	Mínimo	7,95	9,18	1145,44	52,02	1,56	2,89
	Máximo	10,74	29,85	1891,48	68,92	3,23	4,51
Maní Caramelo	Mínimo	4,91	5,28	816,81	29,95	1,12	2,19
	Máximo	5,67	17,34	974,01	53,04	3,69	4,35
Maní Negro	Mínimo	5,97	15,10	894,32	53,17	4,11	3,35
	Máximo	6,97	17,74	1004,40	61,60	4,86	3,89
Soya	Mínimo	8,85	19,90	1054,11	123,33	2,53	3,27
	Máximo	10,03	37,72	2879,82	218,82	4,34	4,53

Tabla 3.23. Límites calculados de los parámetros estudiados en cada leguminosa

Leguminosa	Límite	Humedad (%)	Sodio (mg/L)	Potasio (mg/L)	Calcio (mg/L)	Hierro (mg/L)	Cinc (mg/L)
Garbanzo	Inferior	8,56	18,78	1417,12	58,82	2,22	3,22
	Superior	9,44	22,92	1559,43	62,26	2,63	3,54
Maní Caramelo	Inferior	5,21	8,01	883,79	41,10	1,58	2,96
	Superior	5,43	10,15	916,12	45,97	2,04	3,35
Maní Negro	Inferior	6,29	16,29	927,84	56,89	4,48	3,64
	Superior	6,46	16,83	951,20	58,63	4,60	3,74
Soya	Inferior	9,30	24,07	1964,24	145,80	3,23	3,91
	Superior	9,55	28,01	2315,06	165,18	3,62	4,17

La principal diferencia entre un rango (Tabla 3.22) que va desde el menor al mayor valor obtenido, y un límite (Tabla 3.23) que es un estadístico calculado a partir de la media y de la desviación estándar con un 95% de confianza, es que el rango sirve para tener una idea de la dispersión de los datos; mientras que los límites son valores entre los cuales se encuentran la mayoría de los datos.

3.2. PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN

3.2.1. PRUEBA T

En la tabla 3.24 se presentan los parámetros reportados en la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos de 1965 para cada leguminosa estudiada.

Tabla 3.24. Parámetros reportados en la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos de 1965 para cada leguminosa estudiada.

Leguminosa	Humedad (%)	Calcio (mg/ 100g)	Hierro (mg/100g)
Garbanzo seco	13,1	132	6,5
Maní crudo	5,0	196	10,5
Soya	6,4	70	2,2

El t tabulado para un tamaño de muestra de 27 (26 grados de libertad) y un nivel de significación $\alpha = 0,05$ es de 1,7056 (ANEXO 2); en la tabla 3.25 se presentan el t calculado con la fórmula 1.6 y el resultado de la prueba.

Tabla 3.25. t calculado y resultado de la prueba

Leguminosa	Parámetro	T calculado	Resultado
Garbanzo	Humedad	21,30	H ₀ Rechazada
	Calcio	74,60	H ₀ Rechazada
	Hierro	36,18	H ₀ Rechazada
Maní Caramelo	Humedad	19,35	H ₀ Rechazada
	Calcio	14,82	H ₀ Rechazada
	Hierro	11,41	H ₀ Rechazada
Maní Negro	Humedad	0,45	H ₀ Aceptada
	Calcio	42,22	H ₀ Rechazada
	Hierro	24,25	H ₀ Rechazada
Soya	Humedad	69,75	H ₀ Rechazada
	Calcio	14,89	H ₀ Rechazada
	Hierro	23,75	H ₀ Rechazada

Como se puede observar en la tabla 3.25, a excepción de uno de todos los parámetros, la humedad en el caso del maní negro, de las leguminosas estudiadas presentan diferencias significativas entre el valor obtenido y el valor que se encuentra en la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos de 1965; debido a esto, se determina que es imprescindible la actualización de la tabla.

Las diferencias se deben a que han pasado 50 años desde el último estudio, por lo que factores influenciados por el tiempo como la composición del suelo, las técnicas de agricultura y otros cambian la composición de los alimentos.

3.2.2. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

3.2.2.1. ANALISIS DE VARIANZA ENTRE VARIEDADES

Para realizar la prueba de análisis de varianza se consideraron los datos obtenidos del promedio semanal, es decir, por parámetro se toman en cuenta 9 análisis, tres lugares de muestreo, por tres días distintos en tres semanas y por triplicado del cual se toma el promedio semanal anteriormente mencionado. En la tabla 3.26 se puede observar el análisis de varianza de distintos parámetros para las variedades de leguminosas estudiadas.

Para el análisis de varianza el valor tabulado de F (F crítico) es 2,90; valor obtenido de la tabla F al tener 3 grados de libertad en el numerador y 32 grados de libertad en el denominador con una confianza de 95%.

Tabla 3.26. Análisis de varianza (ANOVA) entre las leguminosas estudiadas

Parámetro	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F Calculado	Criterio de aceptación	Resultado
Humedad%	Entre Variedades	3	105,15	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro de Variedades	32			
	Total	35			
Concentración de Sodio (mg/100g)	Entre Variedades	3	34,00	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro de Variedades	32			
	Total	35			

Parámetro	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F Calculado	Criterio de aceptación	Resultado
Concentración de Potasio (mg/100g)	Entre Variedades	3	68,56	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro de Variedades	32			
	Total	35			
Concentración de Calcio (mg/100g)	Entre Variedades	3	165,24	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro de Variedades	32			
	Total	35			
Concentración de Hierro (mg/100g)	Entre Variedades	3	74,70	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro de Variedades	32			
	Total	35			
Concentración de Cinc (mg/100g)	Entre Variedades	3	8,11	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro de Variedades	32			
	Total	35			

El resultado obtenido en la tabla 3.26 indica que al rechazar todas las hipótesis nulas existen diferencias significativas entre las variedades de leguminosas estudiadas: Garbanzo, Maní Caramelo, Maní Negro y Soya.

Las diferencias se deben a que son distintos tipos de leguminosas y por ende, cada una de ellas tiene diferente composición.

3.2.2.2. ANÁLISIS DE VARIANZA ENTRE MUESTRAS

Al comprobar que existen diferencias significativas entre variedades, se realiza un análisis de varianza tanto de lugares muestreados y semanas de muestre, lo que permite identificar el conjunto de muestras que presentan diferencias significativas.

Para los dos casos del análisis de varianza el valor tabulado de F (F crítico) es 3,40; valor obtenido de la tabla F al tener 2 grados de libertad en el numerador y 24 grados de libertad en el denominador con una confianza de 95%.

- **ANOVA ENTRE LUGARES DE MUESTREO**

Tabla 3.27. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Humedad

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Garbanzo	Entre Lugar	2	264,15	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Lugar	2	44,17	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Lugar	2	8,60	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Soya	Entre Lugar	2	14,75	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			

Como se observa en la tabla 3.27 se determinó que existen diferencias significativas en la humedad de todas las variedades de leguminosas analizadas con respecto al lugar de muestreo, es decir, el lugar de muestreo influencia la humedad presente en cada muestra; estos datos tienen sentido debido a que algunas de las muestras fueron tomadas al granel y otras en empaque.

Tabla 3.28. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Sodio

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Garbanzo	Entre Lugar	2	17,44	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Lugar	2	8,05	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Lugar	2	0,48	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Soya	Entre Lugar	2	4,03	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			

Como se observa en la tabla 3.28 se determinó que existen diferencias significativas con respecto al parámetro sodio en tres de las leguminosas: Garbanzo, Maní Caramelo y Soya, mientras que el Maní Negro no presenta diferencias significativas respecto al lugar de muestreo.

Tabla 3.29. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Potasio

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Garbanzo	Entre Lugar	2	1,62	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Lugar	2	10,64	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Lugar	2	0,17	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Soya	Entre Lugar	2	13,45	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			

Como se observa en la tabla 3.29 se determinó que existen diferencias significativas con respecto al parámetro potasio en dos de las leguminosas; Maní Caramelo y Soya, mientras que el Maní Negro y el Garbanzo no presentan diferencias significativas respecto al lugar de muestreo.

Tabla 3.30. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Calcio

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Garbanzo	Entre Lugar	2	4,28	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Lugar	2	10,25	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Lugar	2	0,66	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Soya	Entre Lugar	2	8,86	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			

Como se observa en la tabla 3.30 se determinó que existen diferencias significativas con respecto al parámetro calcio en tres de las leguminosas; Garbanzo, Maní Caramelo y Soya, mientras que el Maní Negro no presenta diferencias significativas respecto al lugar de muestreo.

Tabla 3.31. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Hierro

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Garbanzo	Entre Lugar	2	28,53	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Lugar	2	47,37	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Lugar	2	1,74	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Soya	Entre Lugar	2	2,68	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			

Como se observa en la tabla 3.31 se determinó que existen diferencias significativas con respecto al parámetro hierro en dos de las leguminosas; Maní Caramelo y Garbanzo, mientras que el Maní Negro y la Soya no presentan diferencias significativas respecto al lugar de muestreo.

Tabla 3.32. ANOVA entre lugares de muestreo. Parámetro: Cinc

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Criterio de aceptación
Garbanzo	Entre Lugar	2	3,78	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Lugar	2	1,44	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Lugar	2	0,26	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			
Soya	Entre Lugar	2	10,67	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Lugar	24			
	Total	26			

Como se observa en la tabla 3.32 se determinó que existen diferencias significativas con respecto al parámetro cinc en dos de las leguminosas; Soya y Garbanzo, mientras que el Maní Negro y el Maní Negro no presentan diferencias significativas respecto al lugar de muestreo.

Se determinó que a excepción de la humedad, no existen diferencias significativas debidas en el Maní Negro en los parámetros analizados debido al lugar de muestreo. En los otros casos (Garbanzo, Maní Caramelo y Soya) se presentan diferencias significativas en algunos parámetros y en otros no al tratarlos como grupo individual, lo que puede indicar que el

proveedor de maní negro es el mismo para los tres lugares de muestreo, o es la misma muestra tomada durante tres semanas distintas.

Con respecto a los otros parámetros en los que el resto de leguminosas no presentan diferencias significativas, es decir, H_0 es aceptada, se puede pensar en que la leguminosa puede absorber un máximo contenido de dicho parámetro.

- **ANOVA ENTRE SEMANAS DE MUESTREO**

Tabla 3.33. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Humedad

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Garbanzo	Entre Semana	2	0,04	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Semana	2	0,96	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Semana	2	4,76	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Soya	Entre Semana	2	1,25	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			

Al observar los resultados presentados en las tablas 3.33 se determina que no existen diferencias significativas en la humedad de todas las variedades de leguminosas analizadas, excepto el maní negro, con respecto a las semanas de muestreo.

Tabla 3.34. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Sodio

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F Calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Garbanzo	Entre Semana	2	0,44	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Semana	2	0,60	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Semana	2	0,64	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Soya	Entre Semana	2	1,46	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			

Al observar los resultados presentados en las tablas 3.34 se determina que no existen diferencias significativas con respecto al parámetro sodio de todas las variedades de leguminosas analizadas, con respecto a las semanas de muestreo.

Tabla 3.35. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Potasio

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Garbanzo	Entre Semana	2	0,60	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Semana	2	0,60	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Semana	2	0,39	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Soya	Entre Semana	2	2,81	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			

Al observar los resultados presentados en las tablas 3.35 se determina que no existen diferencias significativas con respecto al parámetro potasio de todas las variedades de leguminosas analizadas, con respecto a las semanas de muestreo.

Tabla 3.36. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Calcio

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Garbanzo	Entre Semana	2	0,96	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Semana	2	0,32	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Semana	2	0,29	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Soya	Entre Semana	2	4,69	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Rechazada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			

Al observar los resultados presentados en las tablas 3.36 se determina que no existen diferencias significativas con respecto al parámetro calcio de todas las variedades de leguminosas analizadas, excepto la soya, con respecto a las semanas de muestreo.

Tabla 3.37. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Hierro

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F calculada	Criterio de aceptación	Resultado
Garbanzo	Entre Semana	2	0,64	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Semana	2	2,50	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Semana	2	1,37	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Soya	Entre Semana	2	0,26	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			

Al observar los resultados presentados en las tablas 3.37 se determina que no existen diferencias significativas con respecto al parámetro hierro de todas las variedades de leguminosas analizadas, con respecto a las semanas de muestreo.

Tabla 3.38. ANOVA entre semanas de muestreo. Parámetro: Cinc

Variedad	Origen de Variaciones	Grados de libertad	F Calculado	Criterio de aceptación	Criterio de aceptación
Garbanzo	Entre Semana	2	1,31	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Caramelo	Entre Semana	2	0,88	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Maní Negro	Entre Semana	2	1,70	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho Aceptada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			
Soya	Entre Semana	2	10,50	$F_{cal} < F_{tab}$	Ho rechazada
	Dentro Semana	24			
	Total	26			

Al observar los resultados presentados en las tablas 3.38 se determina que no existen diferencias significativas con respecto al parámetro cinc de todas las variedades de leguminosas analizadas, con respecto a las semanas de muestreo.

Al analizar los datos, se observa que es necesario ampliar el tiempo del estudio para determinar si estos son realmente los resultados, o pueden diferir significativamente respecto al tiempo.

3.2.3. PRUEBA HDS DE TUKEY

3.2.3.1. PRUEBA DE TUKEY ENTRE VARIEDADES

Tabla 3.39. Prueba de Tukey entre variedades

Parámetro	HDS	Variedades				
Humedad	0,76		Garbanzo	Maní Caramelo	Maní Negro	Soya
		Garbanzo		3,67	2,62	0,43
		Maní Caramelo	Ho Rechazada		1,05	4,10
		Maní Negro	Ho Rechazada	Ho Rechazada		3,05
		Soya	Ho Aceptada	Ho Rechazada	Ho Rechazada	
Sodio	4,8	Garbanzo		11,77	4,29	5,19
		Maní Caramelo	Ho Rechazada		7,48	16,96
		Maní Negro	Ho Aceptada	Ho Rechazada		9,47
		Soya	Ho Rechazada	Ho Rechazada	Ho Rechazada	
Potasio	273,64	Garbanzo		588,32	548,76	651,37
		Maní Caramelo	Ho Rechazada		39,57	1239,70
		Maní Negro	Ho Rechazada	Ho Aceptada		1200,13
		Soya	Ho Rechazada	Ho Rechazada	Ho Rechazada	
Calcio	15,57	Garbanzo		17,00	2,78	94,95
		Maní Caramelo	Ho Rechazada		14,22	111,95
		Maní Negro	Ho Aceptada	Ho Aceptada		97,73
		Soya	Ho Rechazada	Ho Rechazada	Ho Rechazada	
Hierro	0,54		Garbanzo	Maní Caramelo	Maní Negro	Soya
		Garbanzo		0,62	2,12	1,00
		Maní Caramelo	Ho Rechazada		2,73	1,61
		Maní Negro	Ho Rechazada	Ho Rechazada		1,12
		Soya	Ho Rechazada	Ho Rechazada	Ho Rechazada	
Cinc	0,43	Garbanzo		0,19	0,27	0,54
		Maní Caramelo	Ho Aceptada		0,46	0,72
		Maní Negro	Ho Aceptada	Ho Rechazada		0,26
		Soya	Ho Rechazada	Ho Rechazada	Ho Aceptada	

Como se puede observar en la tabla 3.39 en el lado derecho, arriba de las intersecciones (marcadas con negro) se encuentran las diferencias de las medias, mientras que a la izquierda y debajo de las intersecciones se encuentran los criterios de resultados.

Al analizar los datos, la mayoría de H_0 son rechazadas, es decir, la diferencia entre las medias son mayores al HDS calculado para cada parámetro. Para que se presenten diferencias significativas en el ANOVA realizado al menos, la comparación de un par de medias de variedades debe ser mayor al HDS, rechazando así H_0 e indicando que existen diferencias significativas.

3.2.3.2. PRUEBA DE TUKEY PARA MUESTRAS

- **TUKEY ENTRE LUGARES DE MUESTREO**

Tabla 3.40. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro; Humedad

Variedad	HDS			Lugar 1	Lugar 2	Lugar 3
Garbanzo	0,28		Media	8,27	10,35	8,37
		Lugar 1	8,27		2,08	0,10
		Lugar 2	10,35	Ho Rechazada		1,98
		Lugar 3	8,37	Ho Aceptada	Ho Rechazada	
Maní Caramelo	0,17		Media	5,49	5,50	4,99
		Lugar 1	5,49		0,01	0,50
		Lugar 2	5,50	Ho Aceptada		0,51
		Lugar 3	4,99	Ho Rechazada	Ho Rechazada	

Variedad	HDS			Lugar 1	Lugar 2	Lugar 3
Maní Negro	0,30		Media	6,14	6,39	6,60
		Lugar 1	6,14		0,25	0,46
		Lugar 2	6,39	Ho Aceptada		0,20
		Lugar 3	6,60	Ho Rechazada	Ho Aceptada	
Soya	0,33		Media	9,73	9,47	9,08
		Lugar 1	9,73		0,27	0,65
		Lugar 2	9,47	Ho Aceptada		0,39
		Lugar 3	9,08	Ho Rechazada	Ho Rechazada	

La prueba de Tukey realizada para el parámetro humedad, representada en la Tabla 3.40 entre lugares de muestreo de las variedades que presentaron diferencias significativas demuestra que existe al menos diferencia significativa entre las medias, es decir, que se rechaza la Ho, por lo que en la prueba de ANOVA también se encuentran diferencias significativas.

Tabla 3.41. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro: Sodio

Variedad	HDS			Lugar 1	Lugar 2	Lugar 3
Garbanzo	4,75		Media	25,73	15,58	21,24
		Lugar 1	25,73		10,15	4,49
		Lugar 2	15,58	Ho Rechazada		5,66
		Lugar 3	21,24	Ho Aceptada	Ho Rechazada	

Variedad	HDS			Lugar 1	Lugar 2	Lugar 3
Maní Caramelo	5,22		Media	23,97	30,85	24,63
		Lugar 1	23,97		6,88	0,66
		Lugar 2	30,85	Ho Rechazada		6,22
		Lugar 3	24,63	Ho Aceptada	Ho Rechazada	
Soya	3,13		Media	7,24	10,60	9,40
		Lugar 1	7,24		3,36	2,16
		Lugar 2	10,60	Ho Rechazada		1,20
		Lugar 3	9,40	Ho Aceptada	Ho Aceptada	

La prueba de Tukey realizada para el parámetro sodio, representada en la Tabla 3.41 entre lugares de muestreo de las variedades que presentaron diferencias significativas demuestra que existe al menos diferencia significativa entre las medias, es decir, que se rechaza la H_0 , por lo que en la prueba de ANOVA también se encuentran diferencias significativas.

Tabla 3.42. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro: Potasio

Variedad	HDS			Lugar 1	Lugar 2	Lugar 3
Maní Caramelo	482,49		Media	2198,41	1730,64	2534,30
		Lugar 1	2198,41		467,77	335,89
		Lugar 2	1730,64	Ho Aceptada		803,66
		Lugar 3	2534,30	Ho Aceptada	Ho Rechazada	
Soya	39,82		Media	906,29	933,83	859,75
		Lugar 1	906,29		27,54	46,54
		Lugar 2	933,83	Ho Aceptada		74,08
		Lugar 3	859,75	Ho Rechazada	Ho Rechazada	

La prueba de Tukey realizada para el parámetro potasio, representada en la Tabla 3.42 entre lugares de muestreo de las variedades que presentaron diferencias significativas demuestra que existe al menos diferencia significativa entre las medias, es decir, que se rechaza la H_0 , por lo que en la prueba de ANOVA también se encuentran diferencias significativas.

Tabla 3.43. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro: Calcio

Variedad			Lugar 1	Lugar 2	Lugar 3
Garbanzo		Media	62,44	61,86	57,32
	Lugar 1	62,44		0,58	5,12
	Lugar 2	61,86	Ho Rechazada		4,55
	Lugar 3	57,32	Ho Rechazada	Ho Rechazada	
Maní Caramelo		Media	133,98	156,66	175,84
	Lugar 1	133,98		22,68	41,87
	Lugar 2	156,66	Ho Aceptada		19,19
	Lugar 3	175,84	Ho Rechazada	Ho Aceptada	
Soya		Media	47,04	45,84	37,74
	Lugar 1	47,04		1,20	9,30
	Lugar 2	45,84	Ho Aceptada		8,10
	Lugar 3	37,74	Ho Rechazada	Ho Rechazada	

La prueba de Tukey realizada para el parámetro calcio, representada en la Tabla 3.43 entre lugares de muestreo de las variedades que presentaron diferencias significativas demuestra que existe al menos diferencia significativa entre las medias, es decir, que se rechaza la H_0 , por lo que en la prueba de ANOVA también se encuentran diferencias significativas.

Tabla 3.44. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro: Hierro

Variedad			Lugar 1	Lugar 2	Lugar 3
Garbanzo		Media	2,81	1,79	2,68
	Lugar 1	2,81		1,01	0,13
	Lugar 2	1,79	Ho Rechazada		0,89
	Lugar 3	2,68	Ho Rechazada	Ho Rechazada	
Maní Caramelo		Media	3,85	2,80	3,61
	Lugar 1	3,85		1,05	0,24
	Lugar 2	2,80	Ho Rechazada		0,81
	Lugar 3	3,61	Ho Aceptada	Ho Rechazada	

La prueba de Tukey realizada para el parámetro hierro, representada en la Tabla 3.44 entre lugares de muestreo de las variedades que presentaron diferencias significativas demuestra que existe al menos diferencia significativa entre las medias, es decir, que se rechaza la H_0 , por lo que en la prueba de ANOVA también se encuentran diferencias significativas.

Tabla 3.45. Prueba de Tukey entre lugares. Parámetro: Cinc

Variedad			Lugar 1	Lugar 2	Lugar 3
Garbanzo		Media	3,63	3,14	3,32
	Lugar 1	3,63		0,49	0,32
	Lugar 2	3,14	Ho Rechazada		0,18
	Lugar 3	3,32	Ho Rechazada	Ho Rechazada	
Soya		Media	3,32	3,51	2,70
	Lugar 1	3,32		0,18	0,63
	Lugar 2	3,51	Ho Aceptada		0,81
	Lugar 3	2,70	Ho Rechazada	Ho Rechazada	

La prueba de Tukey realizada para el parámetro cinc, representada en la Tabla 3.45 entre lugares de muestreo de las variedades que presentaron diferencias significativas demuestra que existe al menos diferencia significativa entre las medias, es decir, que se rechaza la Ho, por lo que en la prueba de ANOVA también se encuentran diferencias significativas.

- **TUKEY ENTRE SEMANAS DE MUESTREO**

Tabla 3.46. Prueba de Tukey entre Semanas

Parámetro	Variedad	HDS	Semana				
					Semana 1	Semana 2	Semana 3
Humedad	Maní Negro	0,34		Media	6,59	6,24	6,30
			Semana 1	6,59		0,35	0,29
			Semana 2	6,24	Ho Rechazada		0,07
			Semana 3	6,30	Ho Aceptada	Ho Aceptada	
Calcio	Soya	7,41		Media	42,77	47,98	39,86
			Semana 1	42,77		5,21	2,92
			Semana 2	47,98	Ho Aceptada		8,13
			Semana 3	39,86	Ho Aceptada	Ho Rechazada	
Cinc	Soya	0,51		Media	3,27	3,55	2,72
			Semana 1	3,27		0,28	0,55
			Semana 2	3,55	Ho Aceptada		0,83
			Semana 3	2,72	Ho Rechazada	Ho Rechazada	

Las diferencias entre semanas de muestreo puede deberse al cambio de proveedor o varios proveedores, ya que si el suelo en las que crece la variedad tiene propiedades similares, no son exactamente las mismas; y en el caso de la humedad, el producto pudo haber sido más fresco o estar expuesto a otras condiciones de almacenamiento.

3.3. VALIDACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE SODIO EN ALIMENTOS

A continuación se presentan los resultados de la validación del analito. Los resultados se presentan de acuerdo al plan de validación propuesto en el punto 1.8 del presente trabajo de disertación.

- **LINEALIDAD**

➤ **CURVAS DE CALIBRACIÓN**

Se analizaron cinco curvas de calibración por cinco días, las concentraciones utilizadas para las curvas de calibración en mg/L fueron: 0,050; 0,100; 0,125; 0,250; 0,500 y 1,000.

En la tabla 3.47 se presentan los resultados obtenidos:

Tabla 3.47. Resultados de concentración y absorbancia de las curvas de calibración

Día	Concentración (mg/L)	Absorbancia					Promedio
Día 1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	0,050	0,046	0,045	0,047	0,050	0,044	0,046
	0,100	0,074	0,079	0,076	0,075	0,080	0,077
	0,125	0,098	0,093	0,095	0,100	0,092	0,096
	0,250	0,166	0,178	0,164	0,175	0,169	0,170
	0,500	0,322	0,331	0,344	0,348	0,327	0,334
	1,000	0,690	0,682	0,647	0,666	0,638	0,665

Día	Concentración (mg/L)	Absorbancia					Promedio
Día 2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	0,050	0,044	0,046	0,046	0,048	0,049	0,047
	0,100	0,078	0,075	0,074	0,076	0,074	0,075
	0,125	0,093	0,095	0,092	0,092	0,097	0,094
	0,250	0,169	0,164	0,173	0,166	0,164	0,167
	0,500	0,340	0,322	0,327	0,322	0,331	0,328
	1,000	0,638	0,647	0,656	0,648	0,673	0,652
Día 3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	0,050	0,046	0,044	0,050	0,047	0,046	0,047
	0,100	0,074	0,080	0,075	0,078	0,080	0,077
	0,125	0,100	0,097	0,093	0,100	0,092	0,096
	0,250	0,173	0,178	0,164	0,178	0,166	0,172
	0,500	0,322	0,327	0,348	0,348	0,340	0,337
	1,000	0,690	0,690	0,673	0,667	0,638	0,672
Día 4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	0,050	0,044	0,050	0,046	0,048	0,046	0,047
	0,100	0,081	0,074	0,076	0,074	0,075	0,076
	0,125	0,092	0,092	0,095	0,097	0,101	0,095
	0,250	0,164	0,173	0,180	0,164	0,169	0,170
	0,500	0,353	0,331	0,322	0,340	0,322	0,334
	1,000	0,673	0,638	0,638	0,636	0,699	0,657
Día 5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	0,050	0,050	0,044	0,045	0,050	0,045	0,047

Día	Concentración (mg/L)	Absorbancia					Promedio
	0,100	0,076	0,076	0,075	0,078	0,074	0,076
	0,125	0,095	0,097	0,093	0,092	0,095	0,094
	0,250	0,173	0,164	0,169	0,169	0,166	0,168
	0,500	0,331	0,327	0,331	0,322	0,340	0,330
	1,000	0,638	0,656	0,673	0,678	0,656	0,660

A partir de los datos tabulados en la tabla 3.47 se pueden construir las curvas de calibración, que son gráficos de Concentración vs Absorbancia.

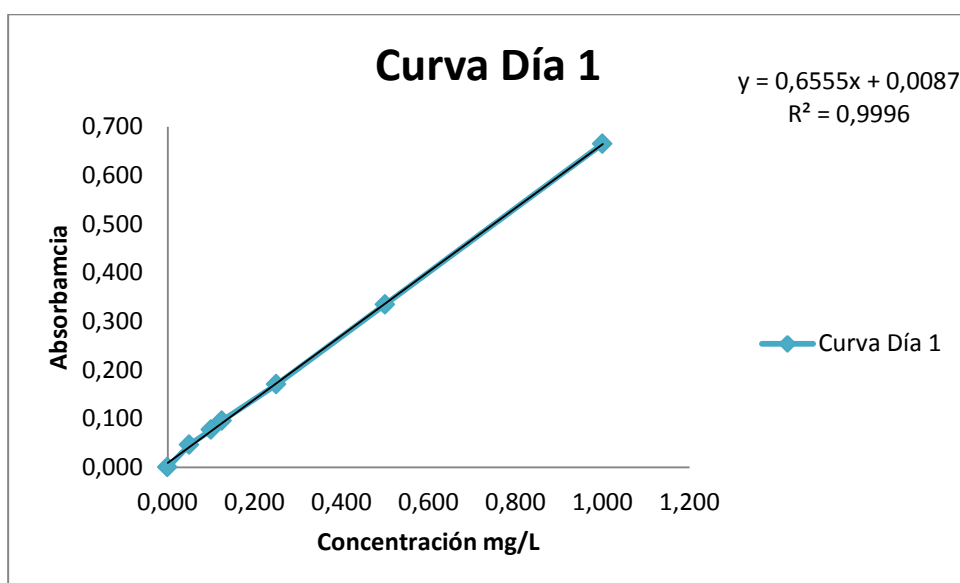


Figura 3.1 Curva de calibración promedio primer día

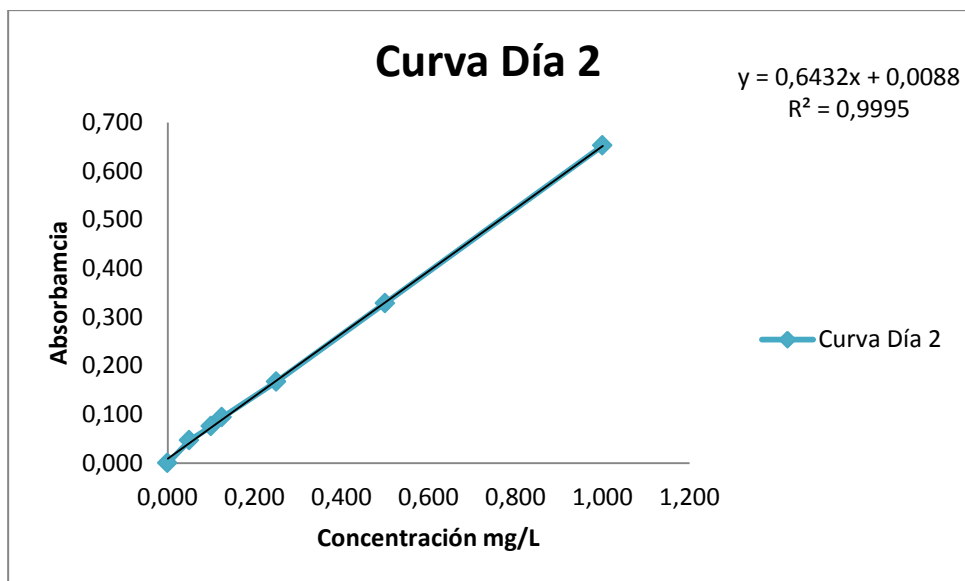


Figura 3.2 Curva de calibración promedio segundo día

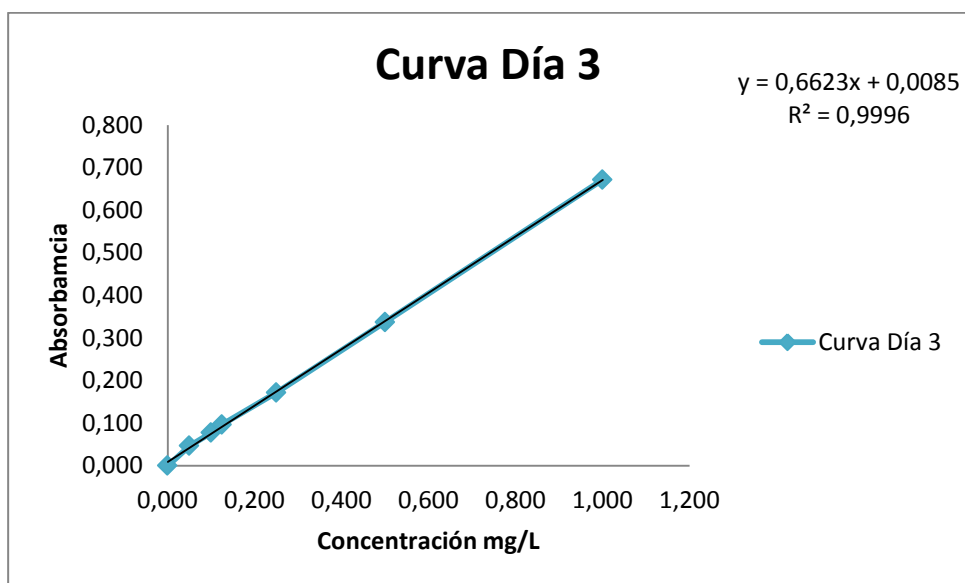


Figura 3.3 Curva de calibración promedio tercer día

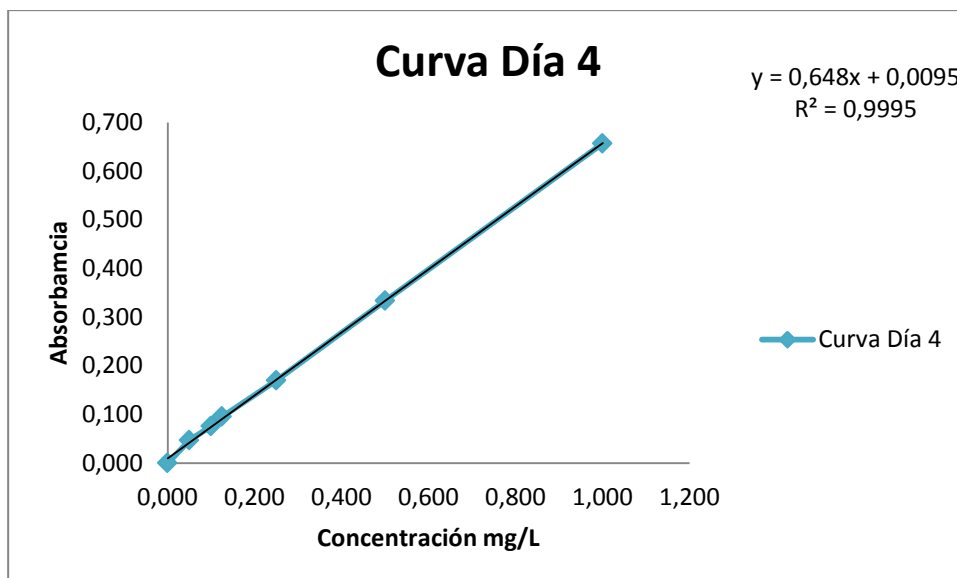


Figura 3.4 Curva de calibración promedio cuarto día

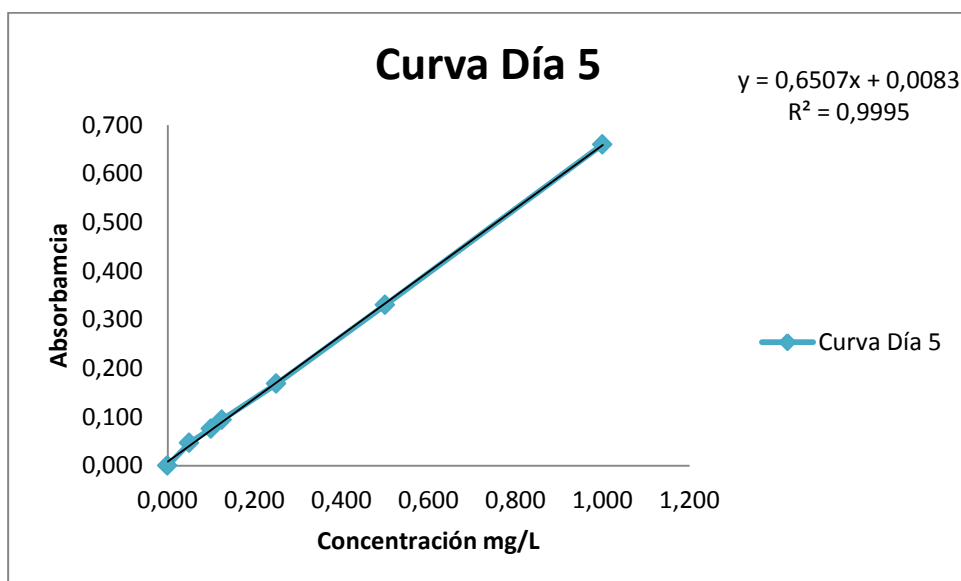


Figura 3.5 Curva de calibración promedio quinto día

Con los resultados obtenidos en la tabla 3.47. se puede calcular la linealidad (r y r^2), la ordenada al origen (a), el error estándar de la estimación de la concentración del analito (Sy/x) y el error de la ordenada al origen de cada grupo de curvas (por día), los cálculos se presentan en el ANEXO 5, los resultados se presentan en la tabla 3.48.

Tabla 3.48. Resultados de linealidad

Día	Parámetro	Valor	Criterio de aceptación	Resultado
1	r	0,9987	$> 0,990$	Cumple
	r^2	0,9973	$> 0,995$	Cumple
2	r	0,9990	$> 0,990$	Cumple
	r^2	0,9980	$> 0,995$	Cumple
3	r	0,9993	$> 0,990$	Cumple
	r^2	0,9986	$> 0,995$	Cumple
4	r	0,9991	$> 0,990$	Cumple
	r^2	0,9982	$> 0,995$	Cumple
5	r	0,9988	$> 0,990$	Cumple
	r^2	0,9976	$> 0,995$	Cumple

➤ SENSIBILIDAD

Para calcular la pendiente se utilizan los datos de las curvas de calibración, dichos cálculos se encuentran en el ANEXO 5. A continuación, en la tabla 3.49 se presentan las pendientes obtenidas.

Tabla 3.49. Resultados de la sensibilidad

Día	Pendiente (b)	Sb
1	0,6566	0,0061
2	0,6520	0,0053
3	0,6494	0,0044
4	0,6500	0,0050
5	0,6516	0,0057

Con la pendiente se puede determinar la sensibilidad, mientras más cerrado sea el ángulo al eje Y significa que el método es más sensible, ya que pequeñas variaciones en la concentración (eje X), darán como resultado grandes cambios en el eje Y (Respuesta). También se presenta el error de la pendiente.

➤ LÍMITES

Para determinar los límites de detección y de cuantificación se realizaron diez lecturas de harina de arroz. Se realizó una dilución 100 a partir de la madre procedente de la digestión, los resultados se presentan en la tabla 3.50.

Tabla 3.50. Resultados de sodio obtenidos de la muestra diluida 100 veces

Muestra	Peso	Resultado en equipo (mg/L)
1	0,5032	0,013
2	0,5278	0,014
3	0,5002	0,014
4	0,5237	0,012
5	0,5295	0,014
6	0,5037	0,013
7	0,5385	0,014
8	0,5296	0,013
9	0,5218	0,016
10	0,5378	0,012

Para calcular los límites se debe realizar el cálculo de la desviación estándar de las lecturas:

$$S= 0,001179$$

- **LÍMITE DE DETECCIÓN**

Se estableció que el límite de detección sería 3,29 veces la desviación estándar, por lo tanto el límite de detección es: 0,004 mg/L

- **LÍMITE CUANTIFICACIÓN**

Se estableció que el límite de cuantificación sería 10 veces la desviación estándar, por lo tanto el límite de cuantificación es: 0,012 mg/L

➤ **VERACIDAD**

- **SESGO**

Para determinar el sesgo del método se realizó el análisis de un material de referencia (Leche en polvo con un contenido de sodio conocido) que tiene de contenido 116 mg de sodio por cada 100 g de material. Los resultados obtenidos en el análisis se reportan en la tabla 3.51.

Tabla 3.51. Análisis de material de referencia

Muestra	Peso	Dilución	Resultado en equipo (mg/L)	(mg/ 100 g de muestra)
MR 1	0,4983	1-40	0,535	107,37
MR 2	0,4905	1-40	0,526	107,24
MR 3	0,5188	1-40	0,546	105,24
MR 4	0,524	1-40	0,583	111,26
MR 5	0,5347	1-40	0,556	103,98
MR 6	0,5115	1-40	0,545	106,55
MR 7	0,5049	1-40	0,528	104,58
MR 8	0,5277	1-40	0,551	104,42
MR 9	0,5238	1-40	0,554	105,77
MR 10	0,5166	1-40	0,553	107,05

Después obtener el resultado de 10 análisis del material de referencia, se procede a calcular la media que es: 106,34 mg/L de sodio. El sesgo se determina con la fórmula 2.13, el sesgo del método es de 9,66 mg/L es decir un 8,32%.

Para establecer si existen diferencias significativas se debe realizar el cálculo y la comparación con t de Student con la fórmula 1.6, al aplicar el cálculo, se obtiene un tcal de 1,440; al revisar la tabla de t de Student el valor crítico es de 2,262, por lo que $t_{cal} < t_{cri}$ y se determina que no existen diferencias significativas y el método puede ser aplicado.

• RECUPERACIÓN

Para determinar la recuperación, se realizaron fortificaciones en tres distintos niveles, 0,050, 0,500 y 1,000 mg/L. El material que se fortificó fue harina de arroz, debido a que se conoce la concentración media determinada al realizar 10 análisis del mismo, la concentración media de sodio en la harina de arroz se indica en la tabla 3.52.

Tabla 3.52 Resultados del análisis de sodio en harina de arroz

Muestra	Peso	Dilución	Resultado en equipo (mg/L)	mg/ 100 g de muestra
1	0,5032	1-10	0,175	8,69
2	0,5278	1-10	0,183	8,67
3	0,5002	1-10	0,163	8,15
4	0,5237	1-10	0,186	8,88
5	0,5295	1-10	0,156	7,37
6	0,5037	1-10	0,164	8,14

Muestra	Peso	Dilución	Resultado en equipo (mg/L)	mg/ 100 g de muestra
7	0,5385	1-10	0,170	7,89
8	0,5296	1-10	0,157	7,41
9	0,5218	1-10	0,195	9,34
10	0,5378	1-10	0,178	8,27

Al realizar el cálculo de los datos tabulados en la tabla 3.52 la media obtenida es de 8,28 mg/100 g de muestra de harina de arroz. La determinación fue realizada después de la digestión vía húmeda asistida por microondas.

En la tabla 3.53 se presentan los resultados obtenidos de las fortificaciones realizadas.

Tabla 3.53. Resultado de las fortificaciones

Peso (g)	Fortificación (mg/L)	Cantidad añadida (mg/L)	Resultado en equipo (mg/L)	Resultado Teórico sin fortificación (mg/L)	Resta	%Recuperación
0,5245	0,050	0,025	0,198	0,174	0,024	97,14
0,5099	0,050	0,025	0,195	0,169	0,026	104,48
0,5059	0,050	0,025	0,192	0,168	0,024	97,78
0,5073	0,500	0,250	0,410	0,168	0,242	96,79
0,5305	0,500	0,250	0,415	0,176	0,239	95,72

0,526	0,500	0,250	0,420	0,174	0,246	98,32
0,5336	1,000	0,500	0,684	0,177	0,507	101,45
0,5119	1,000	0,500	0,682	0,170	0,512	102,49
0,5507	1,000	0,500	0,685	0,182	0,503	100,52

Nota: Se debe tomar en cuenta que los resultados presentados en la tabla 3.53 se obtienen con un factor de dilución 10.

Para interpretar la tabla 3.53. se debe empezar por el cálculo del contenido teórico en mg/L (unidades de lectura del equipo) de sodio de la muestra sin fortificación, dicho cálculo se realiza utilizando la media del contenido de sodio y aplicando la fórmula:

$$C = \frac{8,28 \times M}{25} \quad (3.1)$$

Dónde:

C: concentración teórica en mg/L

8,28: media del contenido de sodio por cada 100g de harina de arroz

M: peso de la muestra en g

Al resultado obtenido en el equipo se debe restar el resultado teórico; se obtiene la recuperación en mg/L, y el porcentaje de recuperación se obtiene aplicando la fórmula 1.28.

En la tabla 3.54 se presentan los porcentajes de recuperación promedio por nivel, total y el coeficiente de variación %CV.

Tabla 3.54. Medias del porcentaje de recuperación de fortificaciones

Nivel de fortificación (mg/L)	Media de porcentaje de recuperaciones	Media total de porcentaje de recuperaciones	Desviación Estándar	CV
0,050	99,80 %	99,41 %	2,96	2,98 %
0,500	96,94 %			
1,000	101,49 %			

Al comparar los resultados de la media total de recuperación y el CV de la tabla 3.54 con los resultados teóricos de la Tabla 1.2, se observa que tanto el porcentaje de recuperación como el coeficiente de variación cumplen con el rango y el límite máximo permitido respectivamente. Por lo que se determina que no existen diferencias significativas.

- **DESVIO Y PRESICIÓN**

- **CONDICIONES DE REPETIBILIDAD**

Para analizar las condiciones de repetibilidad se realizó el análisis del material de referencia 10 veces por un mismo analista, los resultados están expresados en la tabla 3.51. de donde se calcula el coeficiente de variación:

$$\%CV= 1,99 \%$$

Y el coeficiente de variación de Horwitz con la fórmula 1.33:

$$\%CV_h = 9,04 \%$$

Al ser $\%CV < 0,5 - 0,6$ veces $\%CV_h$ se establece que cumple el criterio de aceptabilidad y se considera un método repetible.

➤ CONDICIONES DE REPRODUCIBILIDAD

Para analizar las condiciones de reproducibilidad se realizó el análisis del material de referencia 10 veces por un analista distinto, los resultados están expresados en la tabla 3.55. de donde se calcula el coeficiente de variación:

Tabla 3.55. Resultados del análisis de contenido de sodio en el material de referencia por el segundo analista

Medida	Contenido de sodio en el material de referencia (mg/100 g)
1	118,87
2	111,88
3	114,69
4	111,33
5	119,85
6	119,09
7	114,54
8	114,43
9	117,55
10	112,82

$$\%CV = 2,71 \%$$

Y el coeficiente de variación de Horwitz con la fórmula 1.34:

$$\%CV_{hi} = 6,02 \%$$

Al ser $\%CV < \%CV_{hi}$ se establece que cumple el criterio de aceptabilidad y se considera un método reproducible.

3.3.1. COMPARACIÓN ENTRE MÉTODOS

Para establecer si existen diferencias significativas entre los métodos, se utiliza la prueba t de Student, mediante la cual se compara la media de datos del contenido de sodio obtenidos mediante la digestión vía seca con los de la digestión vía húmeda asistida por microondas. Como las varianzas de las muestras son desiguales, se aplican las siguientes fórmulas. Para determinar si las varianzas son iguales o desiguales se realiza la prueba F de Fisher:

Para F calculado:

$$F_{calculado} = \frac{\sigma_1}{\sigma_2} \quad (3.2)$$

Donde:

σ_1 : Varianza Mayor

σ_2 : Varianza Menor

Si no existe una diferencia significativa entre las varianzas, es decir, $F_{cal} < F_{crít}$ se debe realizar la prueba t. Si existe una diferencia significativa entre las varianzas, es decir, $F_{cal} > F_{crít}$ se debe realizar la prueba t para varianzas desiguales:

Para t calculado:

$$t_{cal} = \frac{(\bar{X1} - \bar{X2})}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad (3.3)$$

Donde:

$\bar{X1}$: media del primer método

$\bar{X2}$: media del segundo método

S1: desviación estándar del primer método

S2: desviación estándar del segundo método

n1: tamaño de muestra del primer método

n2: tamaño de muestra del segundo método

Para grados de libertad:

$$v = \frac{(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2})^2}{\frac{(\frac{s_1^2}{n_1})^2}{n_1 - 1} + \frac{(\frac{s_2^2}{n_2})^2}{n_2 - 1}} \quad (3.4)$$

- **Digestión vía seca**

Tabla 3.56. Resultados del análisis de sodio en harina de arroz después de digestión vía seca

Alimento (mg/100g)	Media (mg/ 100 g)	Desviación estándar
9,32	10,45	2,84
9,06		
10,07		
12,20		
7,91		
15,26		
6,09		
13,54		
10,64		

- **Digestión vía húmeda**

Tabla 3.57. Resultados del análisis de sodio en harina de arroz después de digestión vía húmeda

Alimento (mg/100g)	Media (mg/ 100 g)	Desviación estándar
8,69	8,28	0,40
8,67		
8,15		
8,88		
7,37		
8,14		
7,89		
7,41		
9,34		
8,27		

El F calculado a partir de la fórmula 3.2 es de 50,41 frente a un valor de F crítico de 4,026, es decir que $F_{cal} > F_{tab}$. Por lo que se procedió a realizar la prueba t de varianzas desiguales.

Para determinar diferencias significativas se aplica la prueba t, aplicando la fórmula 3.3 se obtiene que el valor de t calculado es de 2,2448 y son 8,71 grados de libertad equivalentes a 9; el valor de t tabulado es de 2,2622, por lo que $t_{cal} < t_{tab}$ y no existen diferencias significativas entre la digestión por vía seca y la digestión por vía húmeda asistida por microondas.

Por ende, el método de digestión por vía húmeda es equivalente al método de digestión por vía seca y puede ser aplicado para el análisis.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

Se determinó que las leguminosas presentan diferencias significativas respecto a la composición respecto a minerales, es decir, no se puede asegurar que todas las leguminosas son una gran fuente de minerales.

Se determinó que de las variedades de leguminosas estudiadas la soya es la que posee los contenidos más altos de humedad con límites de 9,30 a 9,55 %; de sodio con límites de 24,07 a 28,01 mg/100 g de alimento; de potasio con límites de 1964,24 a 2315,06 mg/100 g de alimento; de calcio con límites de 145,10 a 165,18 mg/100 g de alimento y de cinc con límites de 3,91 a 4,17 mg/100 g de alimento. Mientras que el maní negro es la leguminosa con mayor contenido de hierro con límites de 4,48 a 4,60 mg/100 g de alimento.

Al realizar el análisis de humedad, se determinó que las condiciones de almacenamiento y el lugar de venta influyen directamente en la misma, debido a que las muestras que se venden al granel y las muestras que se venden empacadas poseen diferentes contenidos de humedad.

Al comparar los datos de humedad obtenidos del maní y la soya con los de la NTE; y el resultado de humedad obtenido de garbanzo con la norma CODEX, se determinó que ninguna de las variedades sobrepasa el contenido máximo permitido de humedad.

Al realizar la comparación entre todas las variedades y entre todos los minerales, se determina que el potasio es el mineral que se encuentra en mayor cantidad, seguido por el calcio, el sodio y por último y con concentraciones similares se encuentran el hierro y el cinc.

Al realizar la comparación, mediante la prueba t, de los datos establecidos en la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos de 1965, se determinó que existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos en este estudio y los valores tabulados.

Mediante el ANOVA se establece que existen diferencias significativas entre las variedades de leguminosas, en todos los parámetros estudiados. El ANOVA realizado entre lugares de muestreo indica que en la mayoría de variedades existen diferencias significativas entre un lugar de muestreo y otro. El ANOVA realizado entre semanas de muestreo indica que a excepción de la humedad en el maní negro, el calcio y el cinc en la soya no existen diferencias significativas entre una semana de muestreo y otra.

Al realizar la comprobación, mediante la prueba t, se determinó que el método de digestión por vía húmeda es equivalente al método de digestión por vía seca, por lo que se determina

que es un cambio aplicable para el análisis de minerales por espectrofotometría de absorción atómica después de la digestión y el método de la determinación de sodio en alimentos por espectrofotometría de absorción atómica después de la digestión por microondas es un método validado y aplicable.

Se determinó que el método de digestión por vía húmeda asistida por microondas es un método repetible y reproducible para el análisis de sodio.

4.2. RECOMENDACIONES

Se recomienda Como propuesta para una monografía de grado realizar la actualización de la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos, debido a que se ha demostrado por medio de este estudio que se encuentra obsoleta ya que en 50 años los parámetros estudiados han variado considerablemente.

Se recomienda que para cada análisis se utilice material completamente limpio, debido a que pueden existir interferencias si el material no se encuentra bien lavado provocando así la obtención de resultados inexactos.

Se recomienda leer el manual de operación de cada equipo antes de utilizarlo y capacitar a la persona que será quien lo opere, con la finalidad de evitar daños y asegurar un buen funcionamiento del equipo.

Se recomienda el método de digestión vía húmeda asistida por microondas ante el uso de el método de digestión por vía seca. Si se utiliza el método de digestión por vía seca, se recomienda el uso de crisoles de cuarzo y no de porcelana, debido a que estos últimos pueden interferir en el análisis de sodio y potasio ya que están constituidos por feldespatos.

Se recomienda que las curvas de calibración sean realizadas con micropipetas, sean etiquetadas, analizadas frecuentemente para observar si todavía tienen validez y se conserven en botellas plásticas.

Se recomienda que el tiempo de estudio (muestreo) sea mayor, para determinar si existen diferencias significativas entre semanas de muestreo. Se recomienda un tiempo de muestreo aproximado de un año, aparte, se recomienda que se realice un estudio a nivel de todo el país.

CAPÍTULO V

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1]Boza J., *Valor nutritivo de las leguminosas grano en la alimentación humana y animal*, Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental (1991), <http://www.insacan.org/racvao/anales/1991/articulos/03-1991-07.pdf>, 01 de mayo 2014.
- [2] Botanical online, *Propiedades de las legumbres: Propiedades alimentarias de las legumbres* (2014), <http://www.botanical-online.com/legumbrespropiedades.htm>, 14 de agosto 2014.
- [3] Polo I, (2012). *Determinación proximal de los principales componentes nutricionales de seis variedades de leguminosas: arveja, garbanzo, haba, lenteja, maní y soya*.(Tesis de Licenciatura inédita). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- [4]Ministerio de Previsión Social y Sanidad, (1965). *Tabla de Composición de los Alimentos Ecuatorianos*, <http://blog.espol.edu.ec/kcoello/tabla-de-composicion-de-alimentos-ecuatorianos>, 23 de mayo 2014.
- [5] Food and Agriculture Organization, (1999). Definiciones para los fines del Codex Alimentarius, <http://www.fao.org/docrep/w5975s/w5975s08.htm> , 13 de febrero de 2015
- [6]Zumbado H., (2002), *Análisis químico de alimentos. Métodos Clásicos*, Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana, Cuba.

- [7] Bello J., (2000), *Ciencia Bromatológica. Principios generales de los alimentos*, Ediciones Días de Santos, España.
- [8] Organización Mundial de la Salud, *Nutrición*, (2014), <http://www.who.int/topics/nutrition/es/>, 15 de octubre 2014.
- [9] The Washington Post, (2005), http://www.washingtonpost.com/wp-srv/nation/daily/graphics/diet_042005.gif, 15 de octubre 2014.
- [10] Garrido A., Teijón J., (2006), *Fundamentos de Bioquímica Metabólica*, 2ª Edición, Editorial TÉBAR, España.
- [11] Moreiras O., Carbajal A, Cuadrado C., Cabrera L., (2004). *Tablas De Composición De Alimentos*, Primera Edición, Ediciones Pirámide, Madrid.
- [12] Instituto Médico Láser, *Clasificación de nutrientes: Minerales*, Instituto Médico Láser (2014), <http://www.infonutricion.com/clasificacion-nutrientes-minerales.html>, 30 de septiembre 2014.
- [13] Cuervo M., Corbalán M., Baladías E., Cabrerizo L., Formiguera X., Iglesias C., Lorenzo H., Polanco I., Quiles J., Romero de Ávila M.D., Russolillo G., Villarino A., Alfredo Martínez J., Comparativa de las Ingestas Dietéticas de Referencia (IDR) de los diferentes países de la Unión Europea, de Estados Unidos (EEUU) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS). *Nutr. Hosp.*, Madrid, v. 24, n. 4, agosto 2009. Anexo 11.

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112009000400003&lng=es&nrm=iso, 28 de septiembre 2014.

[14] Villegas E., *El ácido fítico y los fitatos*, Universidad Nacional Agraria La Molina Departamento de Química (2011). <http://agendaquimica.blogspot.com/2011/12/el-acido-fitico-y-los-fitatos.html>. 27 de abril de 2015.

[15] Fernández S. Ph.D., DSM Nutritional Products México S.A. de C.V, *Uso de Enzimas Termoestables en la Alimentación Animal*, Avicultura (2007), <http://www.engormix.com/MA-avicultura/nutricion/articulos/uso-enzimas-termoestables-alimentacion-t1489/141-p0.htm>, 28 de septiembre 2014.

[16] Guerrero A., (1999), *Cultivos Herbáceos Extensivos*, 6ª edición, Mundi-Prensa, Bilbao.

[17] <http://www.desdelsur.com/images/garbanzo.jpg>, 15 de octubre 2014.

[18] <http://www.desdelsur.com/images/mani.jpg>, 15 de octubre 2014.

[19] Figueroa L., (2006), *El libro de la soja*, 1ª edición, Pluma y Papel, Buenos Aires.

[20] <http://somoslibertaria.files.wordpress.com/2012/12/dsc00001.jpg>, 15 de octubre 2014.

[21] Skoog D., Holler F., Nieman T., (2001). *Principios de Análisis Instrumental*, Quinta Edición, Mc Graw Hill, Madrid.

- [22] Food and Agriculture Organization., *Espectroscopia de absorción atómica*, (1994), <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/ab482s04.htm>, 24 de octubre 2014.
- [23] Willard D., *Métodos instrumentales de análisis*, 4^a Edición, CECSA 1981.
- [24] Instituto de Salud Pública Chile. *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “Aspectos generales sobre la validación de métodos”* (2010).http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia%20T%C3%A9cnica%20de%20validaci%C3%B3n%20de%20M%C3%A9todos%20y%20determinaci%C3%B3n%20de%20la%20incertidumbre%20de%20la%20medici%C3%B3n_1.pdf. 21 de enero de 2015.
- [25] http://sthv.quito.gob.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=41. 24 de abril de 2015.
- [26] Association of Official Agricultural Chemists, (2005). *Official Methods of Analysis*, 18va edición, 4ta revisión (2011), Curnut Through, USA.
- [27] Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá, (2007). *Tabla de Composición de Alimentos de Centroamérica*, 2da edición, Tercera reimpresión (2012), Serviprensa S.A., Guatemala.
- [28] Peña G., *Tabla de composición de Alimentos*, Nutricia: Leaders in Scientific Nutrition. http://comedoresugr.tcomunica.org/docs/composicion_alimentos.pdf, 26 de abril de 2015.

ANEXOS

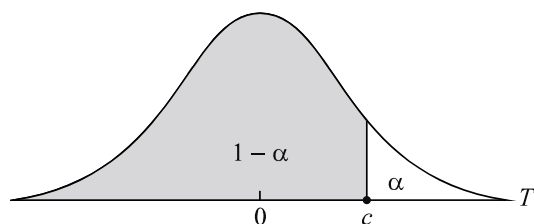
ANEXO 1: TABLA DE COMPOSICIÓN DE LEGUMINOSAS ECUATORIANAS DE 1965 [4]

Leguminosa	Humedad	Calcio	Hierro
Arveja seca	13,20	70,00	5,60
Arveja tierna	69,80	29,00	2,30
Chocho crudo seco	10,40	90,00	5,50
Chocho cocinado	71,30	32,00	2,50
Fréjol tierno	58,20	44,00	3,00
Fréjol seco	9,30	105,00	6,30
Fréjol mantequilla	9,60	76,00	6,80
Fréjol alcahuete	14,20	109,00	5,90
Fréjol de árbol	73,10	30,00	2,00
Fréjol bayo	12,40	130,00	6,70
Fréjol blanco	11,40	131,00	6,60
Fréjol canario	14,50	102,00	4,60
Fréjol chaucha	15,00	117,00	4,80
Fréjol cholo	14,70	79,00	4,30

Leguminosa	Humedad	Calcio	Hierro
Fréjol firiguolo	13,10	74,00	7,10
Fréjol lima	9,30	119,00	5,70
Fréjol mixturiado	12,50	82,00	5,50
Fréjol de monte	10,50	53,00	5,70
Fréjol de palo	12,50	107,00	3,30
Fréjol panamito	14,40	130,00	7,20
Fréjol percal	13,20	143,00	2,70
Fréjol payar	10,20	176,00	6,10
Fréjol del país	8,90	121,00	8,90
Fréjol srandaja	12,10	68,00	5,70
Fréjol túmbez	8,90	84,00	4,90
Garbanzo tierno	59,70	91,00	4,20
Garbanzo seco	13,10	132,00	6,50
Haba tierna	62,40	115,00	4,00
Haba común seca	12,30	112,00	5,70
Haba blanca	10,10	99,00	5,30

Leguminosa	Humedad	Calcio	Hierro
Haba chaucha	12,70	32,00	2,70
Haba mulla	12,30	100,00	5,30
Haba mischoa	11,60	112,00	2,90
Haba suave	12,20	118,00	6,50
Haba verde	11,10	48,00	5,40
Haba payar grande	83,30	32,00	2,70
Habilla cruda	11,90	141,00	4,30
Habilla tostada	7,10	166,00	7,10
Habichuela chica	59,70	43,00	3,10
Lenteja amarilla	13,10	82,00	6,80
Lenteja verde	14,10	80,00	7,30
Lenteja negra	12,90	91,00	6,60
Lentejón	14,10	103,00	8,90
Maní crudo	6,40	70,00	2,20
Maní tostado	1,80	67,00	2,50
Soya	5,00	196,00	10,50

ANEXO 2: TABLA DE DISTRIBUCIÓN T DE STUDENT



	$1 - \alpha$							
<i>r</i>	0.75	0.80	0.85	0.90	0.95	0.975	0.99	0.995
1	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657
2	0.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
3	0.765	0.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
4	0.741	0.941	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
5	0.727	0.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
6	0.718	0.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
7	0.711	0.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499
8	0.706	0.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
9	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
10	0.700	0.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
11	0.697	0.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
12	0.695	0.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055
13	0.694	0.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
14	0.692	0.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
15	0.691	0.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
16	0.690	0.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
17	0.689	0.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898

18	0.688	0.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
19	0.688	0.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861
20	0.687	0.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
21	0.686	0.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
22	0.686	0.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
23	0.685	0.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
24	0.685	0.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
25	0.684	0.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
26	0.684	0.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
27	0.684	0.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
28	0.683	0.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
29	0.683	0.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
30	0.683	0.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750
40	0.681	0.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704
60	0.679	0.848	1.046	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660
120	0.677	0.845	1.041	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617
∞	0.674	0.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576

ANEXO 3: TABLA DE DISTRIBUCIÓN F DE FISHER

Grados de libertad del numerador

Grados de libertad del denominador

	1	2	3	4	5
1	161.45	199.50	215.71	224.58	230.16
2	18.513	19.000	19.164	19.247	19.296
3	10.128	9.552	9.277	9.117	9.013
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.688
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711
21	4.325	3.467	3.072	2.840	2.685

22	4.301	3.443	3.049	2.817	2.661
23	4.279	3.422	3.028	2.796	2.640
24	4.260	3.403	3.009	2.776	2.621
25	4.242	3.385	2.991	2.759	2.603
26	4.225	3.369	2.975	2.743	2.587
27	4.210	3.354	2.960	2.728	2.572
28	4.196	3.340	2.947	2.714	2.558
29	4.183	3.328	2.934	2.701	2.545
30	4.171	3.316	2.922	2.690	2.534
35	4.121	3.267	2.874	2.641	2.485
40	4.085	3.232	2.839	2.606	2.449
45	4.057	3.204	2.812	2.579	2.422
50	4.034	3.183	2.790	2.557	2.400
60	4.001	3.150	2.758	2.525	2.368
70	3.978	3.128	2.736	2.503	2.346
80	3.960	3.111	2.719	2.486	2.329
90	3.947	3.098	2.706	2.473	2.316
100	3.936	3.087	2.696	2.463	2.305
120	3.920	3.072	2.680	2.447	2.290

ANEXO 4: TABLA DE TUKEY

n-1 tratamientos

Grados de libertad del error

	2	3	4	5
5	3,64	4,60	5,22	5,67
6	3,46	4,34	4,90	5,30
7	3,34	4,16	4,68	5,06
8	3,26	4,04	4,53	4,89
9	3,20	3,95	4,41	4,76
10	3,15	3,88	4,33	4,65
11	3,11	3,82	4,26	4,57
12	3,08	3,77	4,20	4,51
13	3,06	3,73	4,15	4,45
14	3,03	3,70	4,11	4,41
15	3,01	3,67	4,08	4,37
16	3,00	3,65	4,05	4,33
17	2,98	3,63	4,02	4,30
18	2,97	3,61	4,00	4,28
19	2,96	3,59	3,98	4,25
20	2,95	3,58	3,96	4,23
24	2,92	3,53	3,90	4,17
30	2,89	3,49	3,85	4,10
40	2,86	3,44	3,79	4,04

ANEXO 5: CÁLCULOS DE LA VALIDACIÓN

Ejemplo de Cálculo primer día, aplicable para los cinco días:

Tabla 1

Obs.No.	Independ	Depend	$X - \bar{X}$ (A)	$Y - \bar{Y}$ (B)	$(X - \bar{X})^2$	$(Y - \bar{Y})^2$	(A*B)
n_i	x_i	y_i					
1	0,000	0,000	-0,29	-0,20	0,08	0,04	0,06
2	0,000	0,000	-0,29	-0,20	0,08	0,04	0,06
3	0,000	0,000	-0,29	-0,20	0,08	0,04	0,06
4	0,000	0,000	-0,29	-0,20	0,08	0,04	0,06
5	0,000	0,000	-0,29	-0,20	0,08	0,04	0,06
6	0,050	0,046	-0,24	-0,15	0,06	0,02	0,04
7	0,050	0,044	-0,24	-0,15	0,06	0,02	0,04
8	0,050	0,046	-0,24	-0,15	0,06	0,02	0,04
9	0,050	0,044	-0,24	-0,15	0,06	0,02	0,04
10	0,050	0,050	-0,24	-0,15	0,06	0,02	0,04
11	0,100	0,074	-0,19	-0,12	0,04	0,02	0,02
12	0,100	0,078	-0,19	-0,12	0,04	0,01	0,02
13	0,100	0,074	-0,19	-0,12	0,04	0,02	0,02
14	0,100	0,081	-0,19	-0,12	0,04	0,01	0,02
15	0,100	0,076	-0,19	-0,12	0,04	0,01	0,02
16	0,125	0,098	-0,16	-0,10	0,03	0,01	0,02
17	0,125	0,093	-0,16	-0,11	0,03	0,01	0,02
18	0,125	0,100	-0,16	-0,10	0,03	0,01	0,02

Obs.No.	Independ	Depend	$X - \bar{X}$ (A)	$Y - \bar{Y}$ (B)	$(X - \bar{X})^2$	$(Y - \bar{Y})^2$	(A*B)
19	0,125	0,092	-0,16	-0,11	0,03	0,01	0,02
20	0,125	0,095	-0,16	-0,10	0,03	0,01	0,02
21	0,250	0,166	-0,04	-0,03	0,00	0,00	0,00
22	0,250	0,169	-0,04	-0,03	0,00	0,00	0,00
23	0,250	0,173	-0,04	-0,03	0,00	0,00	0,00
24	0,250	0,164	-0,04	-0,03	0,00	0,00	0,00
25	0,250	0,173	-0,04	-0,03	0,00	0,00	0,00
26	0,500	0,322	0,21	0,12	0,04	0,02	0,03
27	0,500	0,340	0,21	0,14	0,04	0,02	0,03
28	0,500	0,322	0,21	0,12	0,04	0,02	0,03
29	0,500	0,353	0,21	0,15	0,04	0,02	0,03
30	0,500	0,331	0,21	0,13	0,04	0,02	0,03
31	1,000	0,690	0,71	0,49	0,51	0,24	0,35
32	1,000	0,638	0,71	0,44	0,51	0,19	0,31
33	1,000	0,690	0,71	0,49	0,51	0,24	0,35
34	1,000	0,673	0,71	0,47	0,51	0,23	0,34
35	1,000	0,638	0,71	0,44	0,51	0,19	0,31
SUMA	10,13	6,93	0,00	0,00	3,77	1,63	2,48
MEDIA	0,29	0,20	0,00	0,00	0,11	0,05	0,07

Tabla 2

Obs.No.	\widehat{Y}_i	$Y - \widehat{Y}$ (C)	C^2	X_i^2	Y_i^2	$X_i \times Y_i$
1	0,008	-0,008	6,6E-05	0,0000	0,0000	0,0000
2	0,008	-0,008	6,6E-05	0,0000	0,0000	0,0000
3	0,008	-0,008	6,6E-05	0,0000	0,0000	0,0000
4	0,008	-0,008	6,6E-05	0,0000	0,0000	0,0000
5	0,008	-0,008	6,6E-05	0,0000	0,0000	0,0000
6	0,041	0,005	2,5E-05	0,0025	0,0021	0,0023
7	0,041	0,003	9,2E-06	0,0025	0,0019	0,0022
8	0,041	0,005	2,5E-05	0,0025	0,0021	0,0023
9	0,041	0,003	9,2E-06	0,0025	0,0019	0,0022
10	0,041	0,009	8,2E-05	0,0025	0,0025	0,0025
11	0,074	0,000	4,2E-08	0,0100	0,0055	0,0074
12	0,074	0,004	1,8E-05	0,0100	0,0061	0,0078
13	0,074	0,000	4,2E-08	0,0100	0,0055	0,0074
14	0,074	0,007	5,2E-05	0,0100	0,0066	0,0081
15	0,074	0,002	4,9E-06	0,0100	0,0058	0,0076

Obs.No.	\widehat{Y}_i	$Y - \widehat{Y}$ (C)	C^2	X_i^2	Y_i^2	$X_i \times Y_i$
16	0,090	0,008	6,1E-05	0,0156	0,0096	0,0123
17	0,090	0,003	7,8E-06	0,0156	0,0086	0,0116
18	0,090	0,010	9,6E-05	0,0156	0,0100	0,0125
19	0,090	0,002	3,2E-06	0,0156	0,0085	0,0115
20	0,090	0,005	2,3E-05	0,0156	0,0090	0,0119
21	0,172	-0,006	4,0E-05	0,0625	0,0276	0,0415
22	0,172	-0,003	1,1E-05	0,0625	0,0286	0,0423
23	0,172	0,001	5,0E-07	0,0625	0,0299	0,0433
24	0,172	-0,008	6,9E-05	0,0625	0,0269	0,0410
25	0,172	0,001	5,0E-07	0,0625	0,0299	0,0433
26	0,336	-0,014	2,1E-04	0,2500	0,1037	0,1610
27	0,336	0,004	1,3E-05	0,2500	0,1156	0,1700
28	0,336	-0,014	2,1E-04	0,2500	0,1037	0,1610
29	0,336	0,017	2,7E-04	0,2500	0,1246	0,1765
30	0,336	-0,005	3,0E-05	0,2500	0,1096	0,1655
31	0,665	0,025	6,4E-04	1,0000	0,4761	0,6900

Obs.No.	\widehat{Y}_i	$Y - \widehat{Y}$ (C)	C^2	X_i^2	Y_i^2	$X_i \times Y_i$
32	0,665	-0,027	7,2E-04	1,0000	0,4070	0,6380
33	0,665	0,025	6,4E-04	1,0000	0,4761	0,6900
34	0,665	0,008	6,8E-05	1,0000	0,4529	0,6730
35	0,665	-0,027	7,2E-04	1,0000	0,4070	0,6380
SUMA	6,93	0,0000	4,4E-03	6,7031	3,0049	4,4838
MEDIA	0,20	0,0000	1,2E-04	0,1915	0,0859	0,1281

A partir de las fórmulas planteadas en el apartado se obtienen los estadísticos:

r	0,9987
$R^2 =$	0,9973
b	0,6566
a=	0,0081
$S_{y/x} =$	0,002004
$S_b =$	0,006103
$S_a =$	0,002671

ANEXO 6: MÉTODOS AOAC UTILIZADOS

MÉTODO 925.10:

AOAC Official Method 925.10

Solids (Total)

and Loss on Drying (Moisture) in Flour

Air Oven Method

First Action 1925

Final Action

[Results closely approximate those obtained by 925.09B (see 32.1.02)]. In cooled and weighed dish (provided with cover), 925.09A (see 32. 1 .02), previously heated to $130^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ accurately weigh ca 2 g well—mixed test portion. Uncover test portion, and dry dish, cover, and contents 1 h in oven provided with opening for ventilation and maintained at $130^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$. (1 h drying period begins when oven temperature is actually 130°C .) Cover dish while still in oven, transfer to desiccator, and weigh soon after reaching room temperature. Report flour residue as total solids and loss in weight as moisture (indirect method).

References: JAOAC 8, 665(1925); 9, 40(1926).

MÉTODO 985.35:

AOAC Official Method 985.35

Minerals In Infant Formula,

Enteral Products and Pet Foods

Atomic Absorption Spectrophotometric Method

First Action 1985

Final Action 1988

Revised First Action 1997

(Applicable to Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Na, and K.)

See Table **985.35A** for the results of the interlaboratory study supporting acceptance of the method.

A. Principle

Organic matrix is destroyed by dry ashing in muffle furnace. Remaining ash is dissolved in diluted acid and analyte is determined by atomic absorption spectrophotometry.

B. Apparatus

(a) Glassware.—Thoroughly clean all glassware by soaking overnight in 20% HNO₃ (v/v). Rinse all glassware 3 times with distilled-deionized or 18 MΩ resistance H₂O.

(b) *Evaporating dish*.—100 ml. unetched Vycor (or Pt), flat-bottom, with pour spout; capable of withstanding temperatures to 600°C.

(c) *Atomic absorption spectrophotometer*.—Equipment should be well maintained with good response per unit concentration. e.g. 0.200 abs or above 4 mg/L Cu.

(d) *Furnace*.—With pyrometer to control temperature range of 250—600° ± 10°C.

C. Reagents

(a) Water.—Distilled, deionized, or 18 MΩ resistance, for preparation of standard or test solutions.

(b) *Standard stock solutions.*—Commercially prepared. Certified AA standards, or prepared in laboratory by method **969.2.3A(c)** (*see* 35.1.21) for Na, **969.23A (d)** (*see* 2.6.01) for K, **465.09 B (a)** (*see* 2.6.01) for Ca, **965.09B (b)** (*see* 2.6.01) for Cu, **965.09 B (c)** (*see* 2.6.01) for Fe, **965.09B (e)** (*see* 2.6.01) for Mg, **965.09B (f)** (*see* 2.6.01) for Mn, and **965.09B (g)** (*see* 2.6.01) for Zn.

(c) *Nitric acid*—Unless specified otherwise, use redistilled or ultrapure.

(d) *Lanthanum oxide.*— La_2O_3 , 99.99% AAS quality.

(e) *Lanthanum chloride solution*— LaCl_3 , 1% (w/v) Weigh 11.7 g (± 100 mg) La_2O_3 and transfer to 1 L volumetric flask, Add enough H_2O to wet powder and then slowly add 50 mL HCl(*Caution: Exothermic reaction.*). Let powder dissolve and dilute to volume with H_2O and mix. Lanthanum chloride solution is stable up to 6 months when stored at room temperature.

(f) *Cesium chloride solution.*— CsCl , 10% (w/v). Weigh 12.7 g (± 100 mg) CsCl and transfer to 100 mL volumetric flask. Dilute to volume with H_2O and mix. Make fresh every 6 months.

(g) Filter pulp.—Analyzed ash free.

D. Ashing Procedure

(Note: for liquid formulas, shake container before weighing.)

Place test portion in previously cleaned Vycor evaporating dish (which may contain 5 g filter pulp for ease of handling). Exact amount of composite required will depend on concentration of minerals present. (For powders, take ≥ 1.5 g.) In general, 25 mL

will be adequate. If some minerals, in particular Fe, Cu, or Mn are at very low levels, a larger aliquot (≤ 50 mL) may be necessary.

Dry aliquot in 100 °C overnight or in microwave oven (programmed over ca 30 min).

When dry, heat on hot plate until smoking ignition) for minimum time necessary to obtain ash that is white and free from C, normally 3-5 h, but ≤ 8 h. remove dish from furnace and let cool. Ash should be white and free from C. If ash contains C particles (i.e., it is gray), wet with H₂O and add 0.5-3 mL HNO₃. Dry on hot plate or steam bath and return dish to 525 °C furnace 1-2 h.

Dissolve ash in 5 mL 1M HNO₃, warming on steam bath or hot plate 2-3 min to aid in solution. Add solution to 50 mL volumetric flask and repeat with 2 additional portions of 1M HNO₃. Dilute to 50 mL with 1M HNO₃. (Note: Additional dilutions may be necessary to bring concentrations within the linear range of instrument.)

E. Determination

Add LaCl₃ solution to final dilution of each standard and test solution to make 0.1% (w/v) La for determination of Ca and Mg only. Add CsCl solution to final dilution of each standard and test solution to make 0.5% (w/v) Cs (0.04M) for determination of Na and K only.

Prepare blanks representing all reagents and glassware, and carry through entire procedure.

Prepare calibration curve (concentration vs absorbance) for each mineral to be determined, using wavelength and flame specified in Table **985.35B**. Optimize flame parameters in accordance with instrument manufacturer's instructions. Prepare solutions for calibration of instrument to cover linear range of calibration curve. *See* instrument instructional manual.

Assay test portions in similar manner. Determine concentration of each mineral from its calibration curve and calculate concentration in test sample, taking into account test portion size and dilutions.

References: JAOAC **68**, 514(1985).

J. AOAC Int. **80**, 834 (1997).

ANEXO 7: CERTIFICADOS DE ESTÁNDARES

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA



AccuStandard®, Inc.

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
Website AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA43N-1

Element: Potassium

Storage Condition: Ambient

Hazards: IRRITANT

Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: B8025056-1A

Date Certified: 2/22/2010

Expiration: Feb / 2015

Sample Size: 100 mL

☒ Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation

☒ Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Potassium 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is $\pm 0.24\%$. The CRM uncertainty is $\pm 5\%$. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM#

3141a

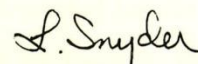
RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be $\pm 0.5\%$ of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

For use in routine laboratory analysis.


Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

OR-ORG/INO-001
Rev. 7/10

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA



AccuStandard, Inc.

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
Website AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA54N-1

Element: Sodium
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: B9025068-1A
Date Certified: 2/12/2010
Expiration: Feb / 2015
Sample Size: 100 mL

Actual Lot Analysis

Sodium 1000 µg/mL

The total maximum uncertainty on the certified value(s) is $\pm 1\%$. See reverse side of certificate for details.


The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3152a

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be $\pm 0.5\%$ of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.


Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

OR-ORG/INO-001
Rev. 7/10



CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace[™] Reference Standard

Item Number: AA70N-1

Element: Zinc
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: 211025060
Date Certified: 2/28/2011
Expiration: Feb / 2016
Sample Size: 100 mL

- ☒ Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
☒ Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Zinc 1000 $\mu\text{g/mL}$

The gravimetric uncertainty for this product is $\pm 0.24\%$. The CRM uncertainty is $\pm 5\%$. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3168a

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be $\pm 0.5\%$ of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

For use in routine laboratory analysis.

L. Snyder
Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor



CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA27N-1

Element: Iron
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: 210065173
Date Certified: 7/1/2010
Expiration: Jul / 2015
Sample Size: 100 mL

- ☒ Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
☒ Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Iron 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is $\pm 0.24\%$. The CRM uncertainty is $\pm 5\%$. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3126a

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be $\pm 0.5\%$ of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

For use in routine laboratory analysis.

L. Snyder
Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA



AccuStandard[®], Inc.
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
Website AccuStandard.com

AccuTrace[™] Reference Standard

Item Number: AA09N-1

Element: Calcium
Storage Condition: Ambient
Hazards: IRRITANT
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: 211025007
Date Certified: 2/7/2011
Expiration: Feb / 2016
Sample Size: 100 mL

- ☒ Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
☒ Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Calcium 1000 $\mu\text{g/mL}$

The gravimetric uncertainty for this product is $\pm 0.24\%$. The CRM uncertainty is $\pm 5\%$. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM#

3109a

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be $\pm 0.5\%$ of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

For use in routine laboratory analysis.

L. Snyder
Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

OR-ORG/INO-001
Rev. 7/10

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Pedro Daniel Dávila Fiallos, C.I. 1721514790 autor del trabajo de graduación intitulado: “Determinación de sodio, potasio, hierro, cinc y calcio en tres leguminosas: garbanzo, soya y maní, por espectrofotometría de absorción atómica de llama.”, previo a la obtención del grado académico de **LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA** en la Facultad de **Ciencias Exactas y Naturales**:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, de Mayo 2015

Sr. Pedro Dávila
C.I. 1721514790